



Avaliação da aptidão tecnológica do leite de ovelha para o fabrico de Queijo de Azeitão DOP

Ana Cláudia Bizarro Brito de Barros

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Zootécnica-Produção Animal

Orientador: Doutor António Pedro Louro Martins

Júri:

Presidente: Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Marília Catarina Leal Fazeres Ferreira, Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;
Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;
Doutor António Pedro Louro Martins, Professor Auxiliar Convocado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Lisboa, 2012

AGRADECIMENTOS

No momento em que dou por concluída esta dissertação para a obtenção de grau de Mestre, gostaria de demonstrar o meu apreço e agradecimento a todos os que tornaram possível o final de mais uma etapa do meu percurso académico:

Ao meu orientador, Professor Doutor António Pedro Louro Martins, por toda a sabedoria, simpatia e disponibilidade que me dispôs ao longo de todo este trabalho.

À Eng^a. Paula Martins, por todo o apoio, amizade e experiência que partilhou comigo neste estudo.

A todos os professores que me acompanharam ao longo destes anos académicos e que me transmitiram ensinamentos cruciais para o meu conhecimento profissional.

Aos meus colegas de universidade, pelos bons momentos passados no ISA, pelas conversas e trocas de ideias essenciais para o meu crescimento académico.

À minha família, por todo o amor e apoio que me concederam durante estes 23 anos. Um especial agradecimento à minha mãe e irmã por toda a paciência e fé que sempre depositaram em mim.

Aos meus amigos, por todos os momentos especiais de amizade que me proporcionaram e por toda motivação que sempre me deram. Um especial agradecimento ao Luis, meu melhor amigo e confidente, pela paciência, compreensão e incansável confiança no meu potencial, como pessoa e como profissional.

A todos, um muito obrigado.

RESUMO

O objectivo deste estudo foi caracterizar o leite utilizado numa queijaria tradicional para fabrico de queijo de Azeitão DOP, nomeadamente no que se refere à composição físico-química, higiénica e aptidão tecnológica, dada a importância da qualidade do leite para o fabrico de queijo. A amostragem decorreu de Fevereiro a Maio e foram analisadas amostras de lotes de leite cru de ovelha destinados ao fabrico de queijo de Azeitão DOP, constituídos por leites individuais (um produtor) ou leites de mistura (dois ou mais produtores), relativamente a parâmetros de composição, higiénicos e ainda parâmetros de avaliação do comportamento do leite na coagulação, tais como o tempo de coagulação, a velocidade de agregação micelar e a consistência do gel. O efeito do produtor foi muito significativo ($p < 0,01$), tanto a nível de composição físico-química e higiénica como de aptidão tecnológica, com o efeito do mês de produção a ser significativo apenas para o teor proteico e para a consistência da coalhada. Os leites mostraram fraca qualidade higiénica, mas também no que se refere ao teor proteico, com repercussões tecnológicas negativas.

Palavra-chave: Leite cru de ovelha, qualidade do leite, composição, higiene, aptidão tecnológica

ABSTRACT

The purpose of this study was to characterize the milk used in the manufacture of Azeitão cheese, in particular the physico-chemical properties, hygiene and technological aptitude, given the influence of milk quality in cheese making. Sampling took place from February to May and samples from raw milk sheep for the manufacture of Azeitão cheese, consisting of individual milk (one producer) or mixed (from different producers) milk, were analyzed for composition, hygiene and parameters for the assessment of the milk clotting behavior, such as clotting time, micellar aggregation properties and gel firmness. The effect of the milk producer was very significant ($p < 0.01$) at both the physical-chemical composition, hygiene and technological aptitude, and the effect of month of production was significant only for protein content and consistency of curd. In general, the milk showed poor hygienic quality and low protein content, with negative repercussions in cheese making behaviour.

Keyword: Raw ewe's milk, milk quality, composition, hygiene, technological aptitude

EXTEND ABSTRACT

Ewe's milk is mostly used for the cheese production. This sector is unstable due to many factors of variation related to the animal production system and technological processes involved in cheese production. The milk quality for making cheese depends on different variables that relate to each other, as the milk composition, freshness and hygiene, which in turn influences its technological performance. The major components of milk for cheese making are protein and fat, the protein being the structural basis of curds. These components may vary in quantity and quality according to conditions of livestock since the animal genetics, lactation status, age, diet management, production type to many other factors. The sanitary quality of the milk is essential for the production of raw milk cheese because it does not suffer any heat treatment and can't limit the milk's microbial presence. Moreover, the microbial quality is also an important factor regarding the raw milk cheese production, because it's required some natural microorganisms of milk to provide a good final product. The technological aptitude of milk, that means, the milk's behavior in coagulation and the following cheese making steps, depends on the physico-chemical and hygienic parameters, being extremely important for the final consistency of the curd, which determines the after quality of the cheese.

In this study the quality of milk for cheese making was assessed, in view of the physico-chemical and hygienic composition in its technological aptitude. The sampling took place from February to May, with weekly collections of raw sheep's milk supplied by a cheese factory, located in Azeitão, which produces PDO cheese Azeitão. The physico-chemical analysis (total solids, solids-non-fat matter, density, protein, fat, acidity, pH) were initially made in the laboratory, however in the middle of the work it was determined by the *Milkoscan 133B* (Foss, Denmark). Microbial milk quality was assessed by the total mesophile count in 30 °C, and also by the methylene blue reduction as an auxiliary qualitative test, in order to know the type of microorganisms present. However, at one point it was also necessary to count the psychrotrophic after 21 hour incubation at 20 °C due to strange results, which gave us more concrete answers. For technological aptitude assessment, the Optigraph was used, allowing the determination of different characteristic times and monitoring the fundamental milk coagulation phases to evaluate its technological quality (consistency of the curd = AR, A2R, A₂₀, A₄₀; beginning time of coagulation =R and time required to obtain a standard consistence = OK20).

The milk showed, in general, a poor physico-chemical composition, with low levels of protein content, which leads in turn to inferior curd quality. The hygienic quality of milk was very inadequate since the total mesophile counts exceeded the limits required by law (500000 cfu/ml) and the microbial quality was as well faulty, with evidence of major contamination and the massive presence of psychrotrophic microorganisms. The producer had a significant influence ($p < 0.01$) in most parameters, which means that the dairy should pay special attention to the milk origin. Based

on milk sanitary and hygiene condition they should monitor more closely the cooling of the milk and the conditions under which it is collected and transported to the dairy facility.

Keyword: Raw ewe's milk, milk quality, composition, hygiene, technological aptitude.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	II
RESUMO	III
ABSTRACT	IV
EXTEND ABSTRACT	V
ÍNDICE	VII
ÍNDICE DE QUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS	XI
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1. Leite de ovelha	3
1.1. Produção e utilização	3
1.1.1. Mundial	3
1.1.2. Portugal	4
1.2. Composição físico-química	5
1.2.1. Proteína	6
1.2.2. Gordura	8
1.2.3. Lactose	8
1.2.4. Minerais e Vitaminas	9
2. Factores inerentes à produção animal que influenciam a composição do leite	9
2.1. Genética	10
2.2. Idade	12
2.3. Estado de Lactação	13
2.4. Alimentação	14
2.5. Tipo de ordenha	15
2.6. Saúde animal	16
3. Aptidão tecnológica do leite para fabrico de queijo	16
3.1. Coagulação	17
1.1.1. Enzimática	18
1.1.2. Ácida	20
1.1.2. Mista	20
3.2. Factores que influenciam a coagulação	20
3.2.1. Tipo de leite	21
3.2.2. Tipo de coagulante	21
3.2.3. Temperatura e pH	22
3.3. Qualidade do leite para fabrico de queijo	23

3.3.1. Qualidade Físico-química.....	23
3.3.2. Qualidade Tecnológica.....	26
3.3.3. Qualidade Higiênica	29
III. MATERIAIS E MÉTODOS	34
1. Breve descrição da queijaria	34
2. Recolha e preparação das amostras	34
3. Métodos de análise	35
3.1. Análise Microbiológica.....	35
3.2. Análise Físico-química	35
3.3. Aptidão Tecnológica.....	36
3.4. Análise de Resultados.....	37
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
1. Características físico-químicas e microbiológicas.....	38
1.1. Médias globais.....	38
1.2. Médias mensais.....	40
1.3. Médias por produtor e por lotes	43
2. Aptidão tecnológica	48
2.1. Médias globais.....	48
2.2. Médias mensais.....	49
2.3. Médias por produtor e por lotes	52
V. CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS	55
VI. BIBLIOGRAFIA	57
VII. ANEXOS	66

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro I – Produção mundial de leite (x1000 ton) por espécie animal, desde 2000 a 2010	3
Quadro II – Produção nacional de leite (ton) de diferentes espécies, desde 2006 a 2010	5
Quadro III – Evolução da produção de queijo (ton) em Portugal, desde 2006 a 2011	5
Quadro IV – Composição média físico-química em leites de diferentes espécies	6
Quadro V – Média de alguns componentes da composição do leite de ovelha entre 1973 e 2005	10
Quadro VI – Oscilações do teor de gordura no leite de ovelha, em Portugal, desde 2006 a 2010 .	10
Quadro VII – Variação do teor de gordura e proteína nos anos 1993 e 2000	11
Quadro VIII – Composição média físico-química e contagem microbiana do leite de ovelha utilizado no ensaio	38
Quadro IX – Médias mensais da composição físico-química e contagem microbiana do leite fornecido na queijaria	41
Quadro X – Média da composição físico-química e contagem microbiana de leites individuais e de mistura	44
Quadro XI – Efeito dos factores produtor e mês na composição físico-química	48
Quadro XII – Aptidão tecnológica geral do leite na queijaria	48
Quadro XIII – Médias mensais dos parâmetros tecnológicos	50
Quadro XIV – Efeito dos factores produtor e mês na aptidão tecnológica	51
Quadro XV – Médias dos parâmetros tecnológicos obtidos para os leites dos diferentes produtores e para os leites de mistura	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama genérico do fabrico de queijo	17
Figura 2 – Evolução das diferentes reacções que têm lugar na coagulação enzimática do leite e representação esquemática da relação entre o número de micelas de caseína (C) por molécula de enzima (E) e do estado de agregação	19
Figura 3 – Evolução da firmeza do gel ao longo da coagulação em leites de espécies pecuárias diferentes	21
Figura 4 – Valores percentuais da redução do azul de metileno durante o ensaio experimental ..	40
Figura 5 – Variação média da gordura e proteína bruta entre Fevereiro e Maio	41
Figura 6 – Variação média da acidez e do pH entre Fevereiro e Maio	42
Figura 7 – Variação mensal da contagem de mesófilos totais.....	43
Figura 8 – Teores médios de proteína e gordura dos diferentes lotes	45
Figura 9 – Valores médios da contagem de mesófilos totais dos diferentes lotes	46
Figura 10 – Valores médios da acidez e pH dos diferentes lotes	46
Figura 11 – Valores médios da contagem de mesófilos totais em diferentes leites de mistura	47
Figura 12 – Valores percentuais da redução do azul de metileno dos diferentes lotes	47
Figura 13 – Evolução dos tempos de coagulação (R) e do tempo necessário para a obtenção de uma consistência padrão (OK20).....	50
Figura 14 – Evolução dos parâmetros de consistência do gel (AR, A2R, A ₂₀ e A ₄₀) ao longo dos meses	51
Figura 15 – Consistência média do gel (AR, A2R, A ₂₀ e A ₄₀) nos diferentes lotes	52
Figura 16 – Tempo de coagulação (R) e velocidade de agregação micelar (OK20) nos diferentes leites	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°D – graus Dornic, medida de acidez, corresponde a titulação com NaOH N/9

°SH – graus Soxhlet-Henkel, medida de acidez, corresponde a titulação com NaOH N/4

cal – calorias

CMT – Contagem de Mesófilos Totais

Coef.Var – Coeficiente de variação

Desv.pad – desvio padrão

DOP/PDO – Denominação de Origem Protegida/Protected designation of origin

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação)

FIL/IDF – Federação Internacional de Leites/International Dairy Federation

GB – Gordura Bruta

INE – Instituto Nacional de Estatística

MG – Matéria Gorda

MS – Matéria Seca

NP – Norma Portuguesa

PB – Proteína Bruta

RSIMG – Resíduo Seco Isento de Matéria Gorda

RST – Resíduo Seco Total

ton – toneladas

ufc/mL – unidades formadoras de colónias/mililitro

V – volt

I. INTRODUÇÃO

O leite de pequenos ruminantes, principalmente de ovelha, é quase exclusivamente utilizado no fabrico de queijo, no entanto o sector queijeiro não é muito certo e conhecido, pois o impacto dos factores de produção animal e também factores tecnológicos na produção de queijo é de grande importância e estão em constante mudança. Esses factores afectam a composição e distribuição dos componentes no leite, o que implica variações na indústria queijeira.

O fabrico de queijo em Portugal é uma actividade muito antiga e com alguma tradicionalidade no que respeita ao tipo de fabrico utilizado e características específicas do produto final. Ao longo do tempo, a tradição foi mantida conferindo, no plano comercial, uma reconhecida e especial qualidade dos nossos produtos queijeiros. Muitos destes produtos beneficiam da protecção da legislação Europeia, designada por Denominação de Origem Protegida (DOP), de forma a manter a qualidade tradicional e o incentivo dos produtores à preservação deste tipo de produções. Com a evolução do sector da produção animal, introduziram-se novas raças, designadas por exóticas, nos efectivos, de forma a melhorar o rendimento leiteiro, o que tem vindo a dificultar as práticas tradicionais queijeiras, visto que ocorrem perdas de componentes e propriedades do leite fundamentais para o fabrico de queijo como, por exemplo, o teor proteico e butirico do leite. Estas mudanças provocam alterações na qualidade do produto final, além de desautorizarem algumas das regras de produtos DOP, perdendo-se a tradicionalidade dos nossos queijos. Deste modo, a indústria queijeira tem tentado melhorar as suas técnicas de fabrico com o objectivo de aperfeiçoar os rendimentos queijeiros, tendo em conta a matéria-prima em utilização.

Têm sido efectuados alguns estudos para conhecer como melhorar a tecnologia de fabrico do queijo, não denegando a qualidade artesanal. No entanto, estas práticas não são fáceis de aplicar quando existe muita variabilidade na qualidade dos leites, sejam variações físico-químicas ou higiénicas. É necessário apontar que, em queijos elaborados com leite cru, a qualidade higiénica é, sem excepção, a mais importante a ter em conta, visto que não se pode corrigir a carga microbiana existente no leite.

O presente trabalho teve lugar no grupo de tecnologia do leite e lacticínios da Unidade de Investigação de Tecnologia Alimentar, do L-INIA, Instituto Nacional de Recursos Biológicos, situado no Instituto Superior de Agronomia. Analisaram-se leites crus de diferentes lotes de produção de uma queijaria, localizada na região de Azeitão, provenientes de nove explorações distintas, sendo todos fornecedores de leite desta mesma queijaria.

Este trabalho teve como objectivo avaliar a qualidade do leite, se possível na sua relação com os factores de produção animal e, tendo em conta as alterações higiénicas e físico-químicas, a avaliação da aptidão tecnológica do leite para o fabrico de queijo. Deste modo, pretende-se conseguir compreender melhor o modo como as queijarias devem actuar tendo em conta a

matéria-prima fornecida, alcançando, com mais eficácia, o controlo adequado do processo produtivo queijeiro e, por sua vez, do produto final obtido.

O documento está organizado em 7 capítulos – I) a introdução, II) a revisão bibliográfica, III) os materiais e métodos utilizados no trabalho experimental, IV) os resultados e respectiva discussão, V) a conclusão e trabalhos futuros sobre a área, e por fim VI) referências bibliográficas e VII) anexos.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Leite de Ovelha

1.1. Produção e utilização

1.1.1. Mundial

Os pequenos ruminantes são animais que se adaptam a pastagens e a terrenos mais pobres. Deste modo, são animais com bom potencial de aproveitamento de zonas desfavorecidas do Mundo. O leite de pequenos ruminantes representava, em 2001, 4,25% da produção mundial e o continente com maior produção era a Ásia (44%), seguido da Europa (34%) (Kalantzopoulos, *et al.*, 2004; FIL/IDF, 2011).

Park & Haenlein (2006) afirmam que a produção mundial de leite de ovelha, tem vindo a diminuir ao longo dos anos, visto que em 1980 representava 1,7% da produção mundial e em 2001 diminuiu para 1,3%.

Em contraste, dados recentes da FIL/IDF (2011) demonstram que a produção mundial de leite de ovelha tem aumentado nos últimos anos, apesar do acréscimo ser ténue (Quadro I).

Quadro I – Produção mundial de leite (x1000 ton) por espécie animal, desde 2000 a 2010

	2000	2005	2008	2009	2010	Crescimento anual (09/10)
Vaca	489.822	547.485	586.298	591.548	601.290	+1,6%
Bufala	67.080	79.425	86.716	90.064	92.885	+3,1%
Cabra	12.812	14.721	15.561	15.853	15.888	+0,2%
Ovelha	8.069	8.944	9.158	9.234	9.272	+0,4%
Outros	1.462	1.621	1.803	1.840	1.840	0%
Total	579.245	652.196	699.536	708.539	721.176	+1,8%

Fonte: FIL/IDF, 2011

Em 21 países Mediterrânicos a utilização de leite de ovelha é exclusiva para fabrico de lacticínios, como manteiga e queijos, sendo este sector de grande importância económica para

estes países (FAO,1986; FAO, 2002). Em Espanha, por exemplo, a utilização de leite de ovelha é praticamente exclusiva para o fabrico de queijo, correspondendo a 99% da produção (Marcos, 1987).

O leite de ovelha produzido por estes países foi de 54% e 58% da produção mundial de leite de ovelha nos anos 1980 e 2001, respectivamente. No entanto, representam uma pequena escala do efectivo mundial, apenas com 1,6% (FAO, 1986; FAO, 2002).

Em países pouco desenvolvidos a produção de leite por animal é reduzida, as explorações dispõem de equipamentos rudimentares e os rebanhos são pequenos. Nos países desenvolvidos o tamanho dos rebanhos é maior, a produção de leite por animal é elevado, os sistemas extensivos voltam a ganhar importância e a higiene e a qualidade do leite têm melhorado (Kalantzopoulos *et al.*, 2004).

Na Grécia e Turquia o fabrico de queijo não controlado representava 35-50% da produção total. Países como Itália, Espanha e França são os únicos com uma indústria estruturada, no que se refere a produtos de origem de leite de ovelha (Kalantzopoulos *et al.*, 2004).

Dados actuais da FIL/IDF (2011) demonstram que a Europa e o Norte da América monopolizam mais de 70% da produção de queijo. A produção de queijo tem aumentado ao longo dos anos, sendo o maior produtor a Europa, com predomínio os países Alemanha e França (Anuário Pecuário, 2008/2009).

1.1.2. Portugal

Em Portugal, no ano 2008, o efectivo ovino era composto por 3.145.000 animais. A principal região produtora é o Alentejo, que deteve 54,2% do efectivo nesse mesmo ano. O restante efectivo distribui-se pelas regiões de Beira interior (14,6%), Trás-os-Montes (10,5%) e Ribatejo e Oeste (8,7%). No entanto, é de referir que na Beira Interior, 73,5% do efectivo é leiteiro (Anuário Pecuário, 2008/2009).

Desde 2006 que a produção nacional de leite, em geral, tem sofrido algumas oscilações, tal como a produção de leite das diferentes espécies pecuárias (INE, 2012). O leite de pequenos ruminantes representa 1,9% da produção nacional de leite, sendo 1,25% e 0,65% de leite de ovelha e cabra, respectivamente (Quadro II).

Tal como noutros países mediterrâneos, também em Portugal o leite de ovelha é utilizado exclusivamente para o fabrico do queijo. No entanto, a produção nacional de queijo é superior ao que se poderia esperar da produção de leite nacional (Quadro III), o que é justificado pelo recurso à importação de leite, essencialmente de países vizinhos como Espanha e França (Martins, 2012).

Quadro II – Produção nacional de leite (ton) de diferentes espécies, desde 2006 a 2010

	2006	2007	2008	2009	2010
Vaca	1.850.836	1.837.192	1.886.225	1.867.635	1.828.843
Ovelha	26.007	23.212	22.017	21.190	23.347
Cabra	12.704	12.015	10.826	11.683	12.196
Total	1.889.547	1.872.419	1.919.068	1.900.508	1.864.386

Fonte:INE, 2012

Quadro III – Evolução da produção de queijo (ton) em Portugal, desde 2006 a 2011

		2006	2007	2008	2009	2010	2011*
Queijo	Vaca	55.431	58.431	55.760	53.694	56.755	57.939
	Ovelha	16.026	15.387	14.752	13.679	13.011	12.378
	Cabra	1.715	1.629	1.649	1.619	1.616	1.649
	Mistura	4.595	4.070	4.941	4.704	5.022	5.127
Total		77.767	79.517	77.102	73.696	76.404	77.093

*valor provisório

Fonte:INE, 2012

1.2. Composição físico-química

Ao contrário das vacas em que a composição do leite pode não variar muito ao longo do ano, visto que a reprodução pode acontecer em qualquer altura do ano, o mesmo não sucede com os pequenos ruminantes; estes são animais de reprodução mais marcadamente sazonal. Assim, de época para época podem ocorrer alterações mais notórias na composição do leite de ovelha ao longo dos anos. Naturalmente, a composição do leite de espécies diferentes é distinto, mas também pelas razões consideradas anteriormente, a comparação da composição bruta entre leite de vaca e leite de ovelha não é muito precisa, mas mesmo assim conseguem-se estabelecer algumas diferenças significativas (Park & Haenlein, 2006).

O leite de ovelha possui um teor de sólidos, gordura, proteína, lactose e minerais mais elevado que nas outras espécies pecuárias (Quadro IV), tal como quanto ao conteúdo nutritivo (Park & Haenlein, 2006; Park *et al.*, 2007).

Quadro IV – Composição média físico-química em leites de diferentes espécies

Composição	Ovelha	Cabra	Vaca
Gordura (%)	7,9	3,8	3,6
Lactose (%)	4,9	4,1	4,7
Proteína (%)	6,2	3,4	3,2
Caseína (%)	4,2	2,4	2,6
Albumina,globulina (%)	1	0,6	0,6
Azoto não proteico (%)	0,8	0,4	0,2
Cinzas (%)	0,9	0,8	0,7
RST (%)	18,42	12,9	12,52
RSIMG (%)	12	8,9	9
Densidade	1,0347-1,0384	1,029-1,039	1,0231-1,0398
Acidez (°D)	22-25	14-23	15-18
pH	6,51-6,85	6,50-6,80	6,65-6,71
Energia/100mL (cal)	105	70	69

Fonte: Adaptado de Alichanidis & Polychroniadou (1997) e Park *et al.* (2007)

As diferenças na composição do leite de ovelha e vaca são também reflectidas em diferenças das suas propriedades físico-químicas. Aparentemente o leite de ovelha possui maior viscosidade, índice de refracção e acidez titulável mas ponto de congelação inferior ao do leite de vaca (Park & Haenlein, 2006).

A diferença de densidades e pontos de congelação entre leite de vaca e leite de pequenos ruminantes são explicadas essencialmente pelos elevados teores de resíduo seco isento de matéria gorda (Alichanidis & Polychroniadou, 1997).

As propriedades físico-químicas do leite variam e dependem das condições de produção e de características individuais de cada animal (Pavic *et al.*, 2002).

1.2.1. Proteína

Das espécies pecuárias referidas no quadro IV, o leite de ovelha é o mais rico em proteína. Tal como Luquet (1985) e Park *et al.* (2007) referem, a fracção azotada do leite de ovelha é quase na sua totalidade proteica (95%), contendo pouca matéria azotada não proteica (5%). Os constituintes proteicos são maioritariamente caseínas (α , β , κ), correspondendo a 78-83%, e os restantes são proteínas de soro, essencialmente β -lactoglobulina e α -lactalbumina, mas também outras como imunoglobulinas, albumina do soro e lactoferrina (Park & Haenlein, 2006; Park *et al.*, 2007).

O mesmo não se verifica para leite de cabra, visto que este tem um nível de fracção proteica não azotada superior e um teor em caseínas inferior, particularmente em algumas caseínas, relativamente a outros leites. Esta composição do leite de cabra é responsável pelo reduzido rendimento queijeiro e fraca estrutura e textura dos iogurtes (Guo, 2003). Ao contrário, o leite de ovelha revela uma óptima aptidão na coagulação.

As seis principais proteínas encontradas no leite de vaca também estão presentes no leite de ovelha: caseína α_{s1} , caseína α_{s2} , caseína β , caseína κ , α -lactalbumina, β -lactoglobulina. As caseínas são as únicas proteínas do leite que coagulam, e que permitem o fabrico do queijo (Park & Haenlein, 2006). A diferença entre a fracção caseínica e as proteínas solúveis é que as caseínas são termorresistentes, não coagulam com o calor mas precipitam por ácidos (pH 4,6) ou por enzimas coagulantes, tal como o coalho animal, enquanto as proteínas solúveis comportam-se de maneira oposta (Sá & Barbosa, 1990).

A estabilidade da proteína aos ácidos e ao calor é semelhante nas diferentes espécies animais (Ramos *et al.*, 1988; Alichanidis & Michaelidou, 1990; Mati *et al.*, 1991). Contrariamente aos outros tipos de caseína, a caseína κ é insensível ao cálcio e estabiliza as outras caseínas fosforiladas perante este catião. Possui também propriedades que facilitam a proteólise pelo coalho, dando origem à coagulação do leite (Luquet, 1985). Pode-se assim, identificar a caseína κ como a principal proteína responsável pela coagulação do leite.

As micelas de caseína de pequenos ruminantes são mineralizadas e possuem maior quantidade de cálcio comparativamente às micelas de caseína de leite de vaca (Remeuf *et al.*, 1989; Pellegrini *et al.*, 1994). O tamanho e a variação da dimensão das micelas das caseínas é superior em leite de cabra que em leite de ovelha e vaca, respectivamente (Le Jaouen *et al.*, 1990; Remeuf *et al.*, 1991; Pellegrini *et al.*, 1994). Esta estrutura micelar tem um efeito directo no seu comportamento tecnológico (Barrucand & Raynal-Ljutovac, 2007).

Numa abordagem genérica, o conteúdo proteico varia de espécie para espécie e é influenciado pela raça, estado de lactação, alimentação, clima, parto, época do ano e saúde do úbere (Park *et al.*, 2007). Os factores que mais influenciam o teor proteico são principalmente os factores genéticos, embora o estado de lactação, a época do ano, a idade e a alimentação sejam também factores decisivos. Relativamente à variação qualitativa da proteína, principalmente a variação em caseína, pode variar de espécie animal e de acordo com o estado de lactação (Barrucand & Raynal-Ljutovac, 2007).

1.2.2. Gordura

De acordo com Park & Haenlein (2006) o leite de ovelha possui gordura em maior quantidade que as outras raças pecuárias, mas mais importante é a sua distribuição de lípidos.

Os lípidos são constituídos maioritariamente por glicéridos (98%) na forma de triglicéridos de cadeia média, mas também contêm outros lípidos simples (monoglicerois, diglicerois), lípidos complexos (fosfoglicéridos) e componentes lipossolúveis (colesterol, hidrocarbonetos) (Luquet, 1985; Park & Haenlein, 2006). O conteúdo fosfolipídico é um pouco maior em leite de ovelha comparativamente ao leite de vaca (Assenat, 1985).

Uma das principais características do leite de pequenos ruminantes é conter um teor elevado de ácidos gordos de cadeia curta e/ou média (Chilliard *et al.*, 2006a; Paccard & Lagrifoul, 2006a; Paccard & Lagrifoul, 2006b). Além disso, o leite de ovelha é mais rico em ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados que o leite de vaca (Park & Haenlein, 2006).

Estudos também demonstram que o tamanho do glóbulo de gordura de leite de pequenos ruminantes é menor que o glóbulo de gordura do leite de vaca (Attaie & Richer, 2000; Park & Haenlein, 2006; Park *et al.*, 2007). Esta característica pode ser vantajosa para a digestibilidade, sendo o metabolismo lipídico mais eficiente em leite de ovelha que em leite de vaca (Park, 1994). O diâmetro dos glóbulos é maior em leite de vaca, o que pode ser uma das razões para que os glóbulos de pequenos ruminantes sejam de mais fácil separação. O leite de ovelha cru pode ser congelado por mais de 6 meses sem haver deteriorização da gordura (Needs, 1992).
Deterioração

Em geral, a composição dos lípidos é influenciada pela época do ano, alimentação, estado de lactação e também factores genéticos (Les Mens, 1985; Juárez & Ramos, 1986; Grummer, 1991; Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008).

1.2.3. Lactose

O principal glúcido do leite é a lactose e os leites de pequenos ruminantes contêm 4,4% e 4,9%, para cabra e ovelha, respectivamente (Grandpierre *et al.*, 1988; Le Jaouen, 1990). O teor médio de lactose no leite de ovelha é igual, se não mesmo inferior, à do leite de vaca. Efectivamente, não representa mais do que 22-27% da matéria seca do leite de ovelha, enquanto, no leite de vaca a relação é superior, entre 33-40%. Este facto significa que o leite de ovelha é um leite “mais queijeiro” (Luquet, 1985).

A lactose é o principal substrato utilizado pela microbiota do leite e, na prática da fabricação do queijo, considera-se que o teor de lactose disponível no leite de ovelha é suficiente para garantir as fermentações lácticas (Luquet, 1985).

1.2.4 Minerais e Vitaminas

Em geral, o leite de ovelha contém 0,9% minerais e o leite de vaca apenas 0,7%. O leite de ovelha possui alguns elementos minerais em quantidades superiores, tais como cálcio, fósforo, magnésio, zinco e ferro (Park & Haenlein, 2006).

O leite de ovelha é dos leites com maior teor de matéria seca e menor solubilidade. Enquanto o leite de cabra é distinguido pelo seu elevado teor em cloreto e potássio (Holt & Jenness, 1984).

A concentração de macro-minerais não varia muito mas os factores que influenciam essa variação são a raça, alimentação, indivíduo, estado de lactação e saúde do úbere (Park & Chukuw, 1988). Em geral, o conteúdo dos minerais varia mais em leite de ovelha que em leite de vaca e o principal factor é alimentação e a época do ano (Rincon *et al.*, 1994).

Relativamente aos conteúdos vitamínicos de leite de ovelha, no geral, são superiores aos outros leites, excepto o β -caroteno, que é todo transformado em retinol (Park *et al.*, 2007; Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008).

O leite de pequenos ruminantes possui teor elevado de vitaminas B, essencialmente niacina (Paccard & Lagrifoul, 2006a; Paccard & Lagrifoul, 2006b) e contém valores de vitamina A superior ao leite de vaca (Park *et al.*, 2007).

2. Factores inerentes à produção animal que influenciam a composição do leite

Os factores de variação da composição do leite, em geral, e também do leite de ovelha são diversos, desde factores relacionados com o animal e com as condições de manejo da produção animal, até aos relacionados com a conservação e com a manipulação do leite (processos tecnológicos).

Relativamente a este trabalho, só iremos abordar, com maior promenor, os factores relacionados com o animal e suas condições de manejo pois influenciam mais directamente e com maior peso a composição do leite como matéria-prima para o fabrico de queijo.

Deste modo, a composição do leite pode variar de acordo com diferentes factores relacionados com a produção animal, tais como a genética do animal, a alimentação, o indivíduo, a parição,

a idade, o tipo de ordenha, o estado de lactação e o estado de saúde do animal (Ramos & Juárez, 1981; Juárez & Ramos, 1986; Park & Haenlein, 2006)

Ao longo do ano, a composição do leite dos pequenos ruminantes não é constante e sofre variações significativas devido à intervenção dos factores referidos anteriormente, de modo muitas vezes mais acentuado do que o leite de vaca, visto que a produção de pequenos ruminantes leiteiros não está técnica e tecnologicamente tão desenvolvida como para o sector bovino (Quadros V e VI).

Quadro V – Média de alguns componentes da composição do leite de ovelha entre 1973 e 2005

	RST(%)	Gordura(%)	Proteína(%)	Caseína(%)	Lactose(%)
Mínima	14,4	3,6	4,75	3,72	4,11
Máxima	20,7	9,97	7,2	5,01	5,51
Média	18,1	6,82	5,59	4,23	4,88

Fonte: Paccard & Lagriffoul, 2006

Quadro VI – Oscilações do teor de gordura no leite de ovelha, em Portugal, desde 2006 a 2010

	2006	2007	2008	2009	2010
Gordura(%)	6,72	6,82	6,79	6,6	6,74

Fonte: INE, 2012

Os aspectos relacionados com as variações de composição qualitativa e quantitativa tendem a atenuar-se quando se trabalha com leites de mistura em grandes lotes, o que ainda não se verifica frequentemente em queijarias tradicionais (Martins & Vasconcelos, 1993).

2.1. Genética

A genética é o factor mais determinante na variação da composição do leite (Ramos & Juárez, 1981; Voutisinas *et al.*, 1988; Bencini & Pulina, 1997). Influencia principalmente a quantidade produzida e a percentagem de gordura (Behmer, 1981). A gordura bruta apresenta maior variabilidade entre raças do que a proteína bruta e outros componentes do leite (Alichanidis & Polychroniadou, 1997).

Se a genética do animal não for boa, não há alternativas externas capazes de melhorar significativamente a composição do leite. Sormunen-Cristian *et al.* (1997), tal como outros autores, confirmam que suplementar ovelhas com mais energia ou proteína, quando estas carecem de potencial genético é uma perda monetária, visto que a alteração da composição do leite não é expressiva.

Estudos também demonstram que o cruzamento entre raças puras pode ser vantajoso para aumentar a quantidade de leite produzida mas altera a composição do mesmo, diminuindo o teor de alguns constituintes importantes, um efeito de diluição dos sólidos bem conhecido. Como exemplo, no estudo de Schalichev & Tanev (1976) do cruzamento entre duas raças puras (East-Friesian e Zlatusha), o leite das ovelhas cruzadas aumentou em rendimento mas diminuiu em concentração de proteína, gordura e cinzas.

A hereditabilidade da produção de leite é de 30-32%, mas existe uma correlação negativa entre a produção de leite e os componentes proteicos e butirosos (Barillet & Astruc, 1995; Sanna *et al.*, 1997). Assim, ao longo da intensificação da produção, o teor destes componentes no leite tem diminuído (Quadro VII).

No entanto, a selecção para o conteúdo de sólidos no leite é mais rápida que para maior produção de leite (progresso genético) (Park & Haenlein, 2006).

Quadro VII – Variação do teor de gordura e proteína nos anos 1993 e 2000

	1993	2000
Gordura	-19%	-34%
Proteína	-23%	-47%

Fonte: Park & Haenlein (2006)

Deste modo, comparando raças altamente produtoras de leite, que foram seleccionadas para intensificar a produção, como por exemplo a raça Assaf, com raças não especializadas na produção de leite, como é o caso da raça Merina, autóctone portuguesa, o leite da raça Merina mostrou-se muito mais rico em conteúdos sólidos, principalmente proteína e gordura (Martins *et al.*, 2007).

Apesar de a gordura ser o componente mais variável geneticamente também a proteína sofre algumas alterações.

De indivíduo para indivíduo, anulando os outros factores de influência, também podem ocorrer polimorfismos genéticos das proteínas, isto é, substituições de aminoácidos nas cadeias

proteicas. Nas principais seis proteínas, mencionadas anteriormente, já se descobriu 19 polimorfismos diferentes. Estas variações são responsáveis por alterações de composição da proteína do leite entre animais da mesma raça, as quais proporcionam comportamentos diferentes do leite perante algumas reacções enzimáticas, tal como na presença do coalho (Park & Haenlein, 2006).

No caso de leite de cabra, a variação da proteína depende, essencialmente, do polimorfismo genético da caseína α_{s1} (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008).

2.2. Idade

O número de partos e, por sua vez, número de lactações estão directamente relacionados com a idade do animal. Considera-se desde há muito que, geralmente, a quantidade de leite produzido aumenta com a idade (Behmer, 1981).

A produção de leite mais elevada verifica-se, normalmente, entre a 3^o e 6^o lactação (Pugliese *et al.*, 2000). A quantidade de leite produzido numa lactação depende do número de crias por parto. A extensão do período de lactação está directamente relacionada com a quantidade de leite produzida nesse mesmo período (Boujenane & Lairini, 1992; Manalu & Summaryadi, 1998; Othmane *et al.*, 2002). Assim, pode afirmar-se que as maiores produtoras de leite diário são as que têm uma lactação mais duradoura.

Othmane *et al.* (2002), além de notarem um aumento de rendimento do leite com a idade, também verificaram aumentos significativos dos teores de proteína e gordura, que por sua vez, também aumentam o rendimento queijeiro. Também noutro estudo realizado com ovelhas Churras (Fuertes *et al.*, 1998), incluindo o período de amamentação, observaram-se maiores teores de proteína e gordura nas ovelhas mais velhas.

No estudo de Othmane *et al.* (2002) foi também analisado o efeito do número de borregos desmamados e observou-se uma maior produção de leite em ovelhas que pariram múltiplas crias. No entanto, o leite destas ovelhas, após o desmame, reduziu o teor em gordura. Leites de ovelhas que pariram apenas uma cria, obtiveram maior rendimento queijeiro.

A utilização de hormonas, seja de crescimento ou de estimulação de parto, podem alterar a composição do leite. Estudos com a utilização de hormonas de crescimento em diferentes raças demonstraram resultados distintos. Na raça Chios, aumentou a produção de leite mas não alterou significativamente a composição de leite em 182 dias de lactação. Ensaio com a raça Comisana revelaram que a produção aumentou 22% mas os teores de gordura reduziram significativamente, de 8,9% para 8,2%, e os teores em proteína diminuíram de 6,2% para 6% (Park & Haenlein, 2006).

A injeção de oxitocina nas ovelhas aumenta a sua produção de leite e alguns estudos demonstram que outras hormonas podem ser responsáveis pelo aumento de gordura na composição do leite (Chiofalo *et al.*, 1999; Zamiri *et al.*, 2001).

2.3. Estado de Lactação

A lactação depende da sazonalidade da produção de leite, que está relacionada com o tipo de manejo animal (Ramos & Juárez, 1981).

A duração da lactação pode ser prolongada utilizando diversas técnicas para controlar a sazonalidade da produção, através do controlo do fotoperíodo (animais estabulados), uso de hormonas, aumento dos níveis nutritivos (“*flushing*”) e ainda por selecção genética (Kleinpeter, 2001; McKusick *et al.*, 2001c; Barrons *et al.*, 2001). Mikus & Masar (1989) também demonstraram que ordenhar 3 vezes ao dia, aumenta o período de lactação para 8-10 meses e a produção aumenta mais 21%.

Geralmente, quando os animais estão em sistema extensivo, o leite é produzido nas épocas Primavera-Verão e/ou Outubro-Julho, enquanto em sistema intensivo os animais podem produzir todo o ano (Ramos & Juárez, 1981).

A quantidade de leite produzido e a sua composição sofrem fortes alterações ao longo da lactação (Gonzalo *et al.*, 1994; Fuertes *et al.*, 1998; Fenyvessy & Javor, 1999). O estudo de Alichanidis & Polychroniadou (1997) revelou uma diminuição do rendimento em leite ao longo da lactação.

Relativamente aos teores de proteína e gordura observa-se uma evolução ao longo da lactação, ao contrário da lactose que vai diminuindo (Schalichev & Tanev, 1976; Othmane *et al.*, 2002; Pavic *et al.*, 2002; Park & Haenlein, 2006;).

Manfredini *et al.* (1993) concluíram que o leite de ovelha contém reduzido conteúdo proteico no início da lactação comparativamente com o final (5,38 e 7,11%). Uma tendência contrária foi estabelecida na lactose, pois o seu conteúdo foi superior no início (4,97%) e menor no fim (4,09%) da lactação. Dario *et al.* (1996) também verificaram essa tendência relativamente ao início (5,32%) e final (4,93%) do período de lactação de ovelhas Leccese.

O estudo de Pavic *et al.* (2002) também demonstrou uma correlação negativa entre os conteúdos de lactose e gordura (-0.47), e entre lactose e proteína (-0.36), que coincidiam com resultados obtidos por Bufano *et al.* (1996), Gut *et al.* (1996) e Ubertaine *et al.* (1996).

A componente do leite mais propícia a variação é a gordura, confirmado pelo estudo de Gonzalo *et al.* (1994). Também foi observada uma diminuição acentuada da gordura em

períodos mais quentes (abril-maio) (Voutisinas *et al.*, 1988; Nunez & Medina, 1989; Muir *et al.*, 1993).

Como já foi referido, a proteína bruta aumenta ao longo da lactação, no entanto efectuaram-se estudos sobre os diferentes constituintes da fracção proteica do leite de modo a ver a sua evolução ao longo da lactação, pois tem cada vez mais interesse no fabrico de queijo e outros lacticínios (Ramos & Juárez, 1981).

Muir *et al.* (1993) e Pellegrini *et al.* (1994) verificaram que a caseína varia pouco, mas Voutisinas *et al.* (1988) e Othmane *et al.* (2002) detectaram um aumento progressivo desta, ao longo da lactação. No ensaio de Tanev & Youcheva (1976), com a raça Zlatusha da Bulgária observou-se um elevado teor da caseína α_s em Maio-Junho e decréscimo em Julho, nos teores da caseína β a diferença não foi significativa e a caseína κ aumentou no fim da lactação.

Relativamente às proteínas de soro, Othmane *et al.* (2002) verificaram valores constantes mas quando estudadas em separado por Tanev & Youcheva (1976), estes detectaram valores elevados de α -lactalbumina em Maio com decréscimo progressivo desde esse mês, enquanto a β -lactoglobulina aumentou no fim da lactação.

Othmane *et al.* (2002) estudaram também a variação do rendimento queijeiro ao longo da lactação e como se verifica que o leite se vai tornando mais rico em gordura e proteína, era de prever que o rendimento queijeiro aumentasse também, o que foi confirmado neste estudo.

Relativamente à variação dos minerais, Alichanidis & Polychroniadou (1997) detectaram maior variação no fósforo que cálcio, mas a razão entre cálcio/fósforo manteve-se estável ao longo da lactação, o que significa que as oscilações não eram muito pronunciadas.

2.4. Alimentação

A alimentação influencia principalmente a percentagem de gordura e também pode ter influência na composição proteica; alguns estudos (Tanev, 1973; Barabas, 1976) demonstram algumas diferenças utilizando diferentes tipos de suplemento proteico.

Outros autores (Brendehaug & Abrahamsen, 1986; Muir *et al.*, 1993) também afirmam que a composição e quantidade de gordura estão dependentes da alimentação dos animais, a qual está relacionada com a época do ano (alimentação mais rica em pasto ou rações), o que tem efeito ao longo da lactação dos animais.

A gordura do leite é afectada principalmente pela alimentação dos animais, devido às alterações entre o rácio concentrado/forragem nas rações, pois a síntese de gordura, na glândula mamária, depende da quantidade de fibra que é veiculada pela ração (Flamant &

Morando-Feher, 1982). Mais de 50% de concentrado na ração diminui a produção de acetato e aumenta a produção de propionato, que por sua vez reduz a síntese de gordura (Rotunno *et al.*, 1998). Para além disso, o aumento de concentrado e diminuição da forragem na alimentação das ovelhas pode diminuir o conteúdo em triglicéridos de cadeia média (Park & Haenlein, 2006).

O factor que mais influencia a variabilidade a nível dos ácidos gordos é a alimentação do animal (Bouquier & Caja, 2001). Para aumentar os níveis de ácidos gordos polinsaturados no leite podem utilizar-se diversas técnicas que diminuem a hidrogenação dos mesmos no rúmen, tendo isto sido demonstrado em alguns estudos bem-sucedidos realizados com cabras (Chilliard & Ferlay, 2004; Sanz Sampelayo *et al.*, 2004).

A utilização de gorduras protegidas, ricas em ácidos oleicos e linoleicos, aumentaram a proporção de ácidos gordos de cadeia média/longa, aumentando assim a proporção de gordura insaturada/saturada no leite (Rotunno *et al.*, 1998).

Na alimentação de ovinos foi também encontrado um aumento de ácidos gordos monoinsaturados em leite depois da administração de azeitona (Chiofalo *et al.*, 2004).

Apesar das grandes alterações observadas na composição do leite devido à alimentação animal, há que ter em consideração que cada animal tem a sua capacidade de produção. A adição de suplementos proteicos e energéticos na alimentação pode não aumentar os teores de gordura e proteína no leite se o animal não tiver capacidade para os transformar (Behmer, 1981).

Deste modo, o efeito da alimentação está aliada à genética do animal e sempre que se elabora uma ração para os animais tem que se ter em conta o potencial genético, de maneira que se consiga aproveitar todo o suplemento alimentar sem qualquer desperdício.

2.5. Tipo de ordenha

A evolução da técnica da ordenha mecânica tem sido confrontada com a fraca morfologia do amujo, o que dificulta esta prática. No entanto, a partir de estudos realizados em Israel, foi criado um sistema de ordenha mecânica para a ordenha de ovelhas que aumentou a extracção de leite de 40 para 70% (Park & Haenlein, 2006).

Estudos demonstram que a ordenha mecânica aumenta a incidência de mastites e que se evidenciam diferenças de composição de leite ordenhado manualmente. Ojeda (1973) detectou uma diminuição no conteúdo bacteriano e no teor em gordura em ovelhas de raça Manchega

ordenhadas mecânicamente. Schalichev & Tanev (1974) obtiveram maiores rendimentos de leite através da utilização da ordenha manual, sem diferenças significativas na composição.

A ordenha a fundo é importante, visto que o último leite retirado é o que tem mais gordura (Sá & Barbosa, 1990).

2.6. Saúde do Animal

Quando o animal está doente ou sofreu algum tipo de *stress*, a síntese de proteína, gordura e lactose, ao nível da glândula mamária, é perturbada e ocorrem modificações na composição do leite (Luquet, 1985).

Como a síntese dos componentes do leite ocorre na glândula mamária do animal, é fundamental que o estado sanitário do úbere esteja em condições, de forma a prevenir infecções.

As mastites subclínicas e clínicas afectam a produção de leite e a sua composição (Park & Haenlein, 2006). Em geral, as mastites diminuem os teores em caseína e lactose e o rendimento queijeiro, aumentando ainda os teores de albumina do soro, imunoglobulinas e cloretos (Haenlein, 1996).

3. Aptidão tecnológica do leite para fabrico de queijo

A frase muito célebre “Leite de cabra, queijo de ovelha e manteiga de vaca” traduz, na perfeição, a melhor aptidão de cada leite das espécies pecuárias referidas, visto que cada uma tem características diferentes, conferindo especial interesse para aproveitamento no fabrico de produtos distintos. O leite de cabra, por ser muito nutritivo, é um bom produto para ser consumido em natureza. Relativamente ao leite de ovelha, sendo o leite mais rico em proteína, é uma matéria-prima mais adequada para o fabrico de queijo, pois proteína é o componente do leite responsável não só pelo rendimento em queijo mas também o mais susceptível de influenciar as suas características físicas e sensoriais. Por fim, devido às características dos seus glóbulos de gordura e ao elevado nível de produção característico da espécie, o leite de vaca é a matéria-prima por excelência para obtenção de uma manteiga saborosa, com elevado rendimento.

Tal como foi referido, o leite de ovelha possui as características fundamentais para o fabrico de queijo. A arte do fabrico de queijo já é utilizada há muitos anos e tem vindo a ser estudada de forma a melhorar as técnicas de fabrico e a conhecer melhor os factores de influência, para que possa conseguir obter um produto final de forma eficiente com elevada qualidade.

O fabrico de queijo envolve diversas fases e todas estão interdependentes, o que significa que é necessário controlar minuciosamente cada etapa. Nem todos os fabricos são iguais e para obter diferentes tipos de queijos existem alterações nas fases do processo. Contudo, todos os fabricos possuem um conjunto de etapas que são comuns e basilares para a elaboração de queijo (Figura 1).

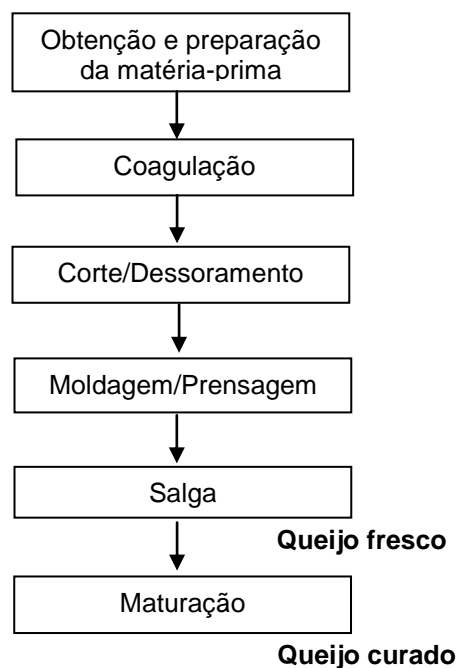


Figura 1 – Diagrama genérico do fabrico de queijo. Adaptado de Martins (2012)

3.1. Coagulação

A coagulação é a etapa inicial do processo tecnológico e está inteiramente dependente da composição do leite utilizado e das condições utilizadas (coagulante, temperatura). A aptidão tecnológica do leite ou as propriedades tecnológicas do leite dependem essencialmente do seu comportamento na coagulação pois esse processo determinará o comportamento da coalhada nas fases subsequentes. Por esse motivo, em geral, e também neste trabalho, o estudo da aptidão tecnológica do leite centra-se sobretudo nessa etapa, no comportamento do leite na coagulação.

A primeira fase da transformação, a coagulação, desempenha, como se referiu, um papel determinante sobre as características do produto acabado. Na coagulação enzimática ocorrem modificações físico-químicas das micelas de caseína sob a acção de enzimas proteolíticas que possibilitam a coagulação da caseína; o fósforo micelar liga-se com o cálcio em solução e o

fosfato de cálcio contribui para a agregação das micelas de caseína, conduzindo à formação de uma rede proteica chamada coágulo, gel ou coalhada (Eck, 1987).

Existem três tipos de coagulação distintos, que estão relacionados com o tipo de coagulante utilizado. A coagulação pode ser enzimática, ácida ou mista.

3.1.1. Enzimática

Na coagulação enzimática, podem utilizar-se proteases de origens diferentes. Algumas não são específicas e proteolizam, de forma rápida e intensa, qualquer tipo de proteína. Em contraste, existem as enzimas que constituem os complexos enzimáticos coagulantes, que são classificadas como proteases aspárticas, e têm como acção primária a destabilização da estrutura coloidal da caseína, explorando a fragilidade particular de uma ligação peptídica da caseína *k*, proteína com grande responsabilidade na estabilidade do complexo caseínico do leite. O coagulante mais tradicional é designado por coalho e é constituído por quimosina e pepsina de origem animal, sendo extraído do quarto estômago dos jovens ruminantes (abomaso/coagulador) que ainda não foram desmamados (Martins, 1999).

Existe outro coagulante também muito utilizado nas queijarias mais tradicionais nos países mediterrâneos, principalmente Portugal e Espanha, que é um extracto obtido a partir de uma planta, o cardo. Este extracto de origem vegetal contém uma mistura de enzimas (cardosinas/ciprosinas) com elevada actividade proteolítica não específica, mas com comportamento coagulante que se revela muito eficaz em leite de ovelha, proporcionando o fabrico de queijos muito característicos (Vasconcelos, 1990; Martins, 1999).

Para que esta coagulação se dê, é necessário haver cálcio livre, na forma iónica, pois a caseína que está na forma de fosfocaseinato de cálcio, ao ligar-se ao cálcio livre, forma o fosfoparacaseinato de cálcio (Sá & Barbosa, 1990). Este tipo de coagulação dá origem, portanto, a coalhadas mineralizadas pois fixam o cálcio no produto (Martins, 2012).

Em geral, distinguem-se duas etapas no processo de coagulação enzimática. A primeira, designada por fase enzimática, corresponde à acção específica da enzima, que ataca o componente estabilizador da micela (caseína *k*) formando a paracaseína. De seguida, dá-se a fase de agregação micelar ou de coagulação, propriamente dita, que corresponde à insobulização da paracaseína em meio cálcico, no qual as micelas se agregam e formam um gel proteico. A agregação só se inicia quando 85-90% da caseína *k* está hidrolisada. O cálcio iónico e o fosfato de cálcio micelar desempenham um papel determinante no fenómeno de agregação (Eck, 1987).

No entanto, há autores que distinguem mais duas fases neste processo, que se vão sucedendo com alguma sobreposição. Assim, a coagulação enzimática pode seguir quatro etapas, em que a primeira e segunda fase correspondem às mesmas referidas anteriormente, fase enzimática e agregação micelar, respectivamente. Simultaneamente à fase de agregação micelar, as enzimas (proteases) podem continuar a actuar sobre as caseínas, com maior ou menor intensidade e rapidez, dependendo do tipo de protease utilizada, constituindo-se assim uma fase designada por fase de proteólise geral, que pode influenciar o rendimento da transformação pela perda de componentes do leite se for demasiado intensa. Por fim, a última fase, designada por sinérese, corresponde à expulsão espontânea de soro, acompanhando o aumento de rigidez da coalhada que, a partir de certo momento, está com consistência favorável para o corte e a continuação do ciclo de fabrico.

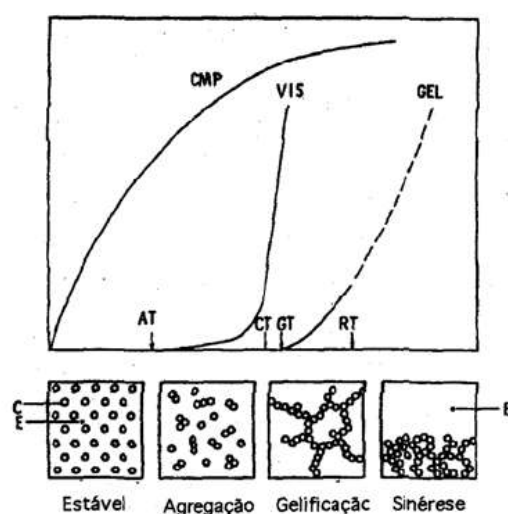


Figura 2 – Evolução das diferentes reacções que têm lugar na coagulação enzimática do leite e representação esquemática da relação entre o número de micelas de caseína (**C**) por molécula de enzima (**E**) e do estado de agregação (Fonte: Van Hooydonk & Van den Berg, 1988).

Legenda: **CMP** – produção de caseinomacropéptido; **VIS** – aumento de viscosidade; **GEL** – firmeza do gel. Tempos característicos: **AT** – início da agregação; **CT** – tempo de coagulação; **GT** – início da gelificação; **RT** – tempo ao fim do qual a consistência é suficiente para iniciar o corte.

Estas fases conduzem a uma sucessão de estados físicos diferentes da coalhada (Figura 2), que têm como reflexo tecnológico um conjunto de tempos característicos utilizados na descrição da acção dos coagulantes, e que deveriam ser considerados no fabrico de queijo (Martins & Vasconcelos, 2003/2004).

3.1.2. Ácida

Este tipo de coagulação é muito diferente da anterior, pois utiliza a acidificação de forma a conduzir o pH do leite ao ponto isoeléctrico das proteínas (4,6). Esta coagulação depende de diversos factores, como a concentração de proteínas, as condições e os agentes de acidificação, a temperatura, a velocidade da acidificação e o pH no final da fermentação (Eck, 1987).

O resultado final é o isolamento da caseína pura, em que o fosfato de cálcio é libertado pelo efeito da acidificação e o cálcio do caseinato vai formar o lactato de cálcio, solúvel, ficando assim a caseína livre (Sá & Barbosa, 1990). Este fenómeno implica perda de cálcio no soro, dando origem a coalhadas descalcificantes, por conseguinte mais frágeis, exigindo outros cuidados no processamento posterior (Martins, 2012).

3.1.3. Mista

O terceiro tipo de coagulação é uma junção dos dois anteriores, podendo ser predominantemente ácida ou enzimática. Quando é predominantemente ácida, adiciona-se um pouco de coalho para melhorar um pouco a qualidade da coalhada, e quando é predominantemente enzimática, o comportamento é intermédio entre os dois tipos de coagulação.

Na maioria dos fabricos de queijo, a coagulação é efectuada por via enzimática, por vezes acompanhada por acidificação, não suficiente, no entanto, para promover, só por si, a coagulação (Eck, 1987). Principalmente em França ou em queijos com origem neste País é comum a utilização da coagulação ácida, com o auxílio de pequenas quantidades de enzima coagulante, para proporcionar maior resistência ao gel formado.

3.2. Factores que influenciam a coagulação enzimática

Conhecidas as fases da coagulação, pode-se abordar de seguida os principais factores que as influenciam. Nestes factores estão incluídos o tipo de leite, o tipo de coagulante (natureza e concentração das enzimas), a temperatura, o pH e ainda os sais minerais, designadamente o cálcio e o cloreto de sódio. Aqui temos, de facto, algumas das razões principais da associação das características do leite à produção de queijo; como se pode observar, à excepção do tipo de coagulante e do cloreto de sódio, aditivos utilizados no fabrico, e da temperatura, factor externo, os outros (tipo de leite, pH e teor em cálcio) são factores inerentes à própria matéria-prima.

3.2.1. Tipo de leite

Os leites de diferentes espécies não têm o mesmo comportamento na coagulação, pois as composições não são idênticas. Evidentemente que o teor e composição da fracção caseínica são os que mais afectam as diferenças das coalhadas de leite de vaca, cabra e ovelha. Observando o gráfico da Figura 3, no leite de ovelha a firmeza do gel é muito maior e tal sucede pelo seu conteúdo proteico elevado, essencialmente caseína α , pois é a fracção proteica agregadora. A caseína do leite de vaca tem muitos pontos de ligação e por essa razão este é evolutivo na firmeza. No leite de cabra não há evolução por muito tempo; existem poucos pontos de ligação com o cálcio, pois tem pouca caseína α . Rapidamente ganha firmeza mas depois a coalhada vai-se quebrando espontâneamente pois a maioria da proteína (caseína β) é hidrofóbica e não se agrega tão eficazmente (Martins, 2012).

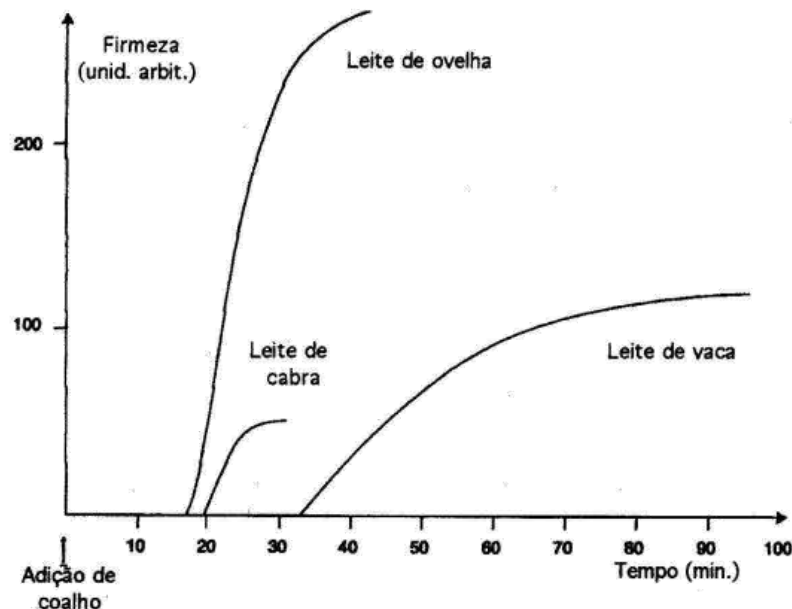


Figura 3 – Evolução da firmeza do gel ao longo da coagulação em leites de espécies pecuárias diferentes (Fonte: Lenoir *et al.*, 1997).

3.2.2. Tipo de coagulante

Um outro factor importante é o tipo de coagulante que se utiliza, pois tem grande relevância a relação da actividade específica de coagulação/actividade proteolítica não específica (C/P) que o caracteriza (Martins & Vasconcelos, 2003/2004). A proporção de quimosina/pepsina é importante, pois o poder do coagulante influencia a quantidade de enzima a adicionar (Eck, 1987).

O tempo de coagulação é inversamente proporcional à quantidade de enzima adicionada, assim quanto maior a quantidade de coalho adicionado, mais rápida será a coagulação (Behmer, 1981; Eck, 1987).

Nem todos os leites têm o mesmo comportamento em relação ao coalho, podendo apresentar diferentes aptidões para formarem um gel que possua características reológicas que lhe permitam sofrer, sem perdas, as intervenções mecânicas necessárias ao dessoramento. Alguns coagulam lentamente, formam geles moles que após esgotamento da coalhada dão coalhadas húmidas difíceis de dominar depois, na cura. Outros coagulam rapidamente, o gel é firme, escoia bem o soro e a coalhada apresenta textura e humidade conveniente, permitindo obter queijo de boa qualidade (Eck, 1987).

O leite de ovelha é muito sensível ao coalho, visto ter uma elevada proporção de caseína β/α_s , coagulando assim mais rápido que o leite de vaca. O leite de ovelha necessita de menos quantidade de coalho para obter o mesmo tempo de coagulação com leite de vaca (Park & Haenlein, 2006).

3.2.3. Temperatura e pH

A temperatura também tem que ser controlada, pois abaixo de 10 °C não se verifica agregação micelar e, a temperaturas superiores a 65 °C podem mesmo destruir a enzima (Eck, 1987). As temperaturas óptimas rondam os 28-37 °C (Sá & Barbosa, 1990).

O tempo de coagulação e a firmeza do gel são os parâmetros mais sensíveis a alterações do pH, por isso o controlo do mesmo é fundamental. O pH ideal seria 5,5; com pH mais reduzido, o tempo de coagulação é mais curto e o gel mais firme. Com valores superiores a pH 7, a coagulação não ocorre, pois a enzima fica inactivada (Eck, 1987).

Relativamente à fase enzimática, esta é afectada principalmente pela concentração de enzima, pelo pH e pela temperatura. Já na fase de agregação micelar, a enzima não tem influência mas a agregação micelar é extremamente sensível à concentração de cálcio iónico e à temperatura, sendo pouco influenciada pelo pH (Martins & Vasconcelos, 2003/2004).

Resumindo, a aptidão tecnológica do leite está relacionada com o comportamento do leite associado a técnicas de produção queijeira de forma a transformar o leite em queijo, sendo essencialmente a primeira etapa, a coagulação, a mais determinante. Contudo, para fabrico do queijo de qualidade, o tipo de processos tecnológicos utilizados não é o único factor a ter em conta. Estão também associados outros factores importantes que podem influenciar directa ou indirectamente o comportamento do leite, como a suas características físico-químicas e o seu estado higiénico e sanitário.

3.3. Qualidade do leite para fabrico de queijo

A qualidade de um produto depende das características pretendidas e estão-lhes associados inúmeros factores.

A qualidade dos queijos está dependente, em primeiro lugar, da qualidade da matéria-prima, relacionada com aspectos microbiológicos e as características físico-químicas do leite as quais estão inteiramente relacionados com os factores relacionados com produção animal. Em segundo lugar, a tecnologia de fabrico também influencia bastante as características do produto final (Martins & Vasconcelos, 1993).

Assim, a qualidade do leite como matéria-prima para o fabrico de queijo pode ser considerada em três perspectivas que estão relacionadas entres si:

- Qualidade Físico-química – aborda a influência dos diferentes componentes do leite;
- Qualidade Tecnológica – indica se o comportamento do leite em processos tecnológicos resulta num bom rendimento queijeiro e em coalhadas de boas características e está inteiramente dependente da qualidade físico-química do leite;
- Qualidade Higiénica – representa a componente bacteriológica do leite, controlo fundamental quando se utiliza leite cru para fabrico de queijo; esta componente pode alterar significativamente as qualidades precedentes.

3.3.1. Qualidade Físico-química

Na transformação de leite para queijo ocorrem algumas perdas de componentes lácteos e só uma parte do leite é convertida em queijo. A formação de queijo a partir de uma quantidade de leite é normalmente medida e designada por rendimento queijeiro. O objectivo de todas as queijarias é, além de pretenderem um produto de qualidade, pois é economicamente mais viável, obter um maior rendimento queijeiro, isto é, obter mais queijo a partir de menores quantidades de leite utilizadas. Estes objectivos só serão alcançados se o leite possuir os requisitos físico-químicos, tecnológicos e higiénicos adequados e desejados.

Um bom leite para queijaria deve ser rico em componentes úteis para o fabrico, factores do rendimento, como a gordura e, principalmente, proteína (caseína). Para que se possa retirar todo o partido dessa composição, o leite deve possuir um bom equilíbrio mineral relativamente à proteína (cálcio, fósforo), não podendo esquecer-se que, para a coagulação enzimática, é

fundamental a presença de cálcio disponível para a agregação de toda a caseína (Martins & Vasconcelos, 2003/2004; Park & Haenlein, 2006).

Qualquer que seja o tipo de queijo, o rendimento é sempre determinado principalmente pelo teor em proteína, em particular teor de caseínas. Naturalmente que a gordura, sendo um dos componentes do leite de ovelha em maior quantidade, também contribui para o rendimento queijeiro, mas a capacidade de retenção dessa gordura depende do teor em proteína. Por essa razão se afirma que a caseína é o componente mais importante, sendo a base de estrutura da coalhada (Martins & Vasconcelos, 1993). A gordura tem um papel de “homogeneizador”, não é tão importante no rendimento como normalmente é considerado. Quantidade excessiva de gordura implica mais perdas de soro e também pode provocar alguns defeitos na consistência ou exsudações em temperaturas mais elevadas. Uma boa homogeneização garante redução de perdas de matéria gorda no soro, melhoria da textura da pasta, aumento do rendimento por aumento na retenção da água (Eck, 1987).

Estudos e informação sobre o impacto de outros nutrientes, além da proteína e gordura, na tecnologia do fabrico de queijo, são escassos (Othmane *et al.*, 2002; Barrucand & Raynal-Ljutovac, 2007).

Com a intensificação dos sistemas de produção, a composição do leite tem vindo a alterar-se ao longo dos anos, aumentando a quantidade produzida por animal mas diminuindo o teor proteico e butirico do leite. Deste modo, os critérios de pagamento do leite também têm vindo a evoluir e tem-se prestado mais atenção aos teores de gordura e proteína (Barrucand & Raynal-Ljutovac, 2007). A maior valorização deverá corresponder, à partida, a teores mais elevados em proteína, visto que se trata do componente do leite principal para o fabrico de queijo.

Tal como a composição do leite mudou ao longo dos últimos 20 anos, devido a alterações a nível da produção animal, também é usual considerar-se que a composição dos queijos diferiu ao longo do tempo, onde muitos elementos valiosos eventualmente se foram perdendo. O leite de pequenos ruminantes raramente é standartizado para fabrico de queijo e os conteúdos de gordura e proteína, de acordo com a raça e tipo de alimentação, tornam-se importantes (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008).

É de conhecimento geral, que os queijos de cabra e ovelha são alimentos ricos em proteína, gordura, minerais e vitaminas, atribuindo-se à qualidade da gordura do leite influência directa na qualidade sensorial do queijo. Além dos componentes solúveis da gordura, o impacto da tecnologia nas suas propriedades físicas (tamanho do glóbulo, gordura livre, ácidos gordos livres) também pode desempenhar um papel importante no valor nutricional do produto final. Durante a maturação a lipólise e reacções subsequentes induzem o aumento de ácidos gordos livres e o desenvolvimento do *flavour* do queijo. (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008).

A existência de pouca gordura no leite pode implicar igualmente defeitos na textura e no sabor do queijo (Martins & Vasconcelos, 1993). O sabor e aroma do queijo são muito influenciados pela degradação da gordura do leite (lipólise) durante a maturação deste; leites com pouca gordura não realçam com a mesma intensidade o sabor do queijo (Luquet, 1985; Park & Haenlein, 2006).

A composição em vitaminas solúveis dos queijos não depende apenas da sua existência no leite, podendo ser produzidas também durante o processo de fabrico, como é o exemplo da vitamina B, produzida por bactérias lácticas (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008).

A refrigeração também pode influenciar a aptidão tecnológica do leite, não em função da carga microbiana mas através das alterações físico-químicas que provoca, essencialmente alterações nos equilíbrios salinos e na caseína, sendo considerada prejudicial quando prolongada, ao fim de 48 horas (Martins & Vasconcelos, 1993). Temperaturas baixas no armazenamento do leite têm influência no sistema micelar do leite. O arrefecimento solubiliza parcialmente o fosfato de cálcio coloidal e a caseína β . Estas diferenças são responsáveis por alterações nas propriedades dos leites para o fabrico de queijo, especialmente na diminuição do rendimento queijeiro. A caseína β , em leite de cabra, é mais susceptível ao arrefecimento que a mesma em leite de vaca (O'Connor & Fox, 1973).

Ao invés do leite de vaca, o leite de ovelha não altera significativamente as suas propriedades físico-químicas quando refrigerado a 4°C. Apenas foi registado que aumenta o teor em cálcio solúvel após 48 horas de refrigeração, mas as propriedades de coagulação não se alteram (Park & Haenlein, 2006).

Uma vez que o queijo é o produto concentrado da proteína e da gordura do leite, e que, por isso, o rendimento do queijo está relacionado com estes dois componentes, a partir do leite de ovelha consegue-se obter mais queijo para a mesma quantidade de leite de vaca ou cabra (Park & Haenlein, 2006).

O leite de ovelha possui uma consistência da coalhada superior ao de leite de vaca e uma taxa de evolução da consistência da coalhada também mais rápida. Possui, portanto, melhores propriedades à coagulação que o leite de vaca, provavelmente pelo seu elevado conteúdo em caseínas (Bencini & Johnston, 1996).

Para além do efeito da espécie, todos os factores que interferem na composição do leite influenciam o rendimento queijeiro. No trabalho de Martins & Vasconcelos (1993) foram referenciadas diferenças notórias no rendimento de acordo com a variação da composição do leite ao longo da lactação, com condições de fabrico idênticas.

Considerando o rendimento queijeiro, pode-se afirmar que a raça é um factor decisivo. Martins *et al.* (2007) verificaram que em leite de raça Merina o rendimento em fresco foi 27% e 75%

superior ao do leite de raças Saloia e Assaf, respectivamente. Para rendimento em MS a diferença não foi tão elevada, mas para leite de raça Merina continuou a ser superior que as outras raças, mais 17% e 49% relativamente às raças Saloia e Assaf, respectivamente.

Como conclusão, pode-se afirmar que a composição do leite é importante para o fabrico de queijo, pois é o factor que influencia mais o rendimento e, influenciando o comportamento do leite ao longo do fabrico, pode afectar também a qualidade do produto final. Esta influência sob o ponto de vista do comportamento e qualitativo está normalmente relacionada não com o teor dos diferentes componentes mas com a composição dos mesmos, nomeadamente da composição em caseínas ou o seu estado micelar. De facto, estudos relacionam a composição do leite, com o teor em células somáticas, como factor de alteração da proporção entre os componentes, e o rendimento queijeiro (Baldwin *et al.*, 1986; Banos & Shook, 1990; Barbano *et al.*, 1991). Existem também variadíssimos estudos que relacionam o polimorfismo das proteínas, a composição do leite e as suas propriedades tecnológicas (estabilidade ao calor, coagulação por coalho e propriedades específicas do fabrico de queijo) (Jakob, 1994).

3.3.2. Qualidade Tecnológica

O principal factor de rendimento queijeiro está relacionado com a composição do leite mas não é o único factor a ter em conta, pois o tipo de tecnologia de fabrico utilizado também é importante.

O rendimento e a qualidade do queijo dependem também das propriedades tecnológicas, do comportamento do leite. Para confeccionar um bom queijo e obter um elevado rendimento queijeiro, cada litro de leite tem que coagular rapidamente e, por sua vez, originar coalhadas fortes, com maior consistência, fáceis de trabalhar.

Tal como foi abordado anteriormente, a variação da composição do leite, altera o comportamento tecnológico no fabrico de queijo, desde o tempo de coagulação à estrutura final da coalhada. Além disso, como consequência, também pode diminuir o rendimento queijeiro, que não é o pretendido. Deste modo, é importante conhecer a composição do leite e conjuntamente saber quais as melhores técnicas de fabrico a utilizar, de forma a conseguir aproveitar da melhor maneira possível a matéria-prima e obter um queijo de qualidade.

A coagulação, sendo a primeira etapa do fabrico é a mais influenciada pela composição do leite. Assim, é necessário controlar na perfeição esta etapa e estudar as variáveis implícitas, de forma a ser possível potenciar os benefícios do sistema matéria prima-agente coagulante, designadamente a nível do contributo para a qualidade do produto final, promovendo com eficiência as adequadas práticas tecnológicas subsequentes.

Os parâmetros de coagulação normalmente estudados são o tempo de início da floculação, isto é, o tempo de coagulação (**R**), e diferentes medidas de firmeza do gel, que permitam acompanhar a evolução da coagulação e perspectivar o tempo de intervenção sobre o mesmo, tais como: consistência do gel ao fim de um tempo equivalente a $2R/3R$ (**AR/A2R**), consistência do gel ao fim de 20/40 minutos após a adição do coagulante (**A₂₀/A₄₀**) ou outro período, consoante o necessário, e, por fim, ao tempo, após R, necessário para atingir uma firmeza padrão (**OK20**), relacionada com a consistência adequada ao corte da coalhada (McMahon & Brown, 1982) e cujo inverso pode considerar-se como taxa de agregação micelar (Martins *et al.*, 2007).

Algumas propriedades físico-químicas do leite, tais como o pH, o tamanho das micelas de caseína, o rácio cálcio/caseína e outros componentes minerais influenciam o tempo e taxa de coagulação, firmeza da coalhada e, ainda, a quantidade de coalho necessária (Park & Haenlein, 2006; Park *et al.*, 2007). Com um pH menor ou uma maior concentração de proteína, por exemplo, o tempo de coagulação é menor, a coagulação ocorre mais rapidamente (Park & Haenlein, 2006).

O tipo e propriedades da caseína têm grande influência na coagulação do leite, enquanto o tipo de gordura está mais relacionada com o sabor do queijo (Martins & Vasconcelos, 1993). Os sais minerais, cálcio e fósforo, apenas representam 1% da composição do leite mas também influenciam a coagulação deste. O cálcio é muito importante na coagulação enzimática; não só pode influenciar o tempo de coagulação como é factor fundamental da agregação micelar, actuando assim na estrutura e dessoramento da coalhada. A relação entre concentração da caseína e equilíbrio salino pode justificar os diferentes comportamentos do leite na coagulação e as características da coalhada (Martins & Vasconcelos, 1993).

No estudo de Ng-Kwai-Hang *et al.* (1989) observaram-se algumas relações entre o rendimento queijeiro, a composição do leite e a tecnologia de fabrico. Os autores notaram uma correlação negativa entre as propriedades coagulantes do leite e o seu rendimento queijeiro, além de verificarem também correlação entre uma rápida taxa de coagulação e firmeza da coalhada, isto é, melhores propriedades do gel formado, com uma menor perda de gordura, proteína e sólidos totais no dessoramento da coalhada. Verificaram ainda que a gordura influencia os primeiros passos da coagulação, a agregação das micelas destabilizadas, e indicaram que a agregação micelar é mais rápida em leite de pequenos ruminantes que em vaca.

A coagulação de leite de ovelha é mais rápida que a de leite de vaca, dando origem a coalhadas mais consistentes e taxas de agregação micelar mais intensas. Diveros estudos mostram que a firmeza do gel está relacionada com o teor em caseína presente (Alichanidis & Polychroniadou, 1997; Park & Haenlein, 2006).

Maior consistência não significa necessariamente, só por si, melhor aptidão para fabrico de queijo, sendo também importante ter em conta a evolução e o final da coagulação, o início e tipo de dessoramento e o tipo de queijo que se quer fabricar (Martins *et al.*, 2007). A taxa de formação da coalhada é maior em leite de ovelha que em leite de vaca, mas o período de sinérese/dessoramento é mais longo (Glannoukou *et al.*, 1989; Muir *et al.*, 1993; Pellegrini *et al.*, 1994). Esta diferença pode ser explicada pelo facto dos teores de caseína e cálcio coloidal serem superiores em leite de ovelha (Storry & Ford, 1982). A coalhada de leite de ovelha drena menos que a do leite de vaca devido ao elevado teor em sólidos totais, caseína e gordura. Deste modo, a taxa de evolução de firmeza da coalhada de leite de ovelha é mais rápida que a de leite de vaca, formando uma coalhada mais forte (Storry *et al.*, 1983; Assenat, 1985; Kalantzopoulos, 1993; Pellegrini *et al.*, 1994).

A qualidade da proteína, ou seja, a composição da caseína, é também um factor importante para o comportamento do leite no fabrico de queijo. A maior incidência de estudos no que respeita a esta influência é referente a leite de cabra. Alguns estudos deste tipo de leite sobre o efeito das diferentes caseínas nos parâmetros de coagulação concluíram que o teor da caseína α_{s1} parece ser o principal factor que influencia a taxa de formação e a firmeza da coalhada (Ambrosoli *et al.*, 1988; Remeuf *et al.*, 1989; Addeo *et al.*, 1992). A firmeza da coalhada também está positivamente correlacionada com o teor de cálcio presente, teor de β -caseína e o grau de dispersão das micelas, mas negativamente correlacionado com o tamanho das micelas.

O estado e as características da micela têm, assim, um papel decisivo no que toca à firmeza da coalhada (Remeuf *et al.*, 1989). A taxa de formação da coalhada está positivamente correlacionada com o teor de β -caseína. O tempo de coagulação está negativamente correlacionado com o cálcio iónico total, tal como com o rácio α_s/β caseína (Remeuf *et al.*, 1989). A drenagem da coalhada está relacionada com o teor em caseína α_s , cálcio micelar, fósforo e firmeza da coalhada (Storry *et al.*, 1983).

No estudo de Martins *et al.* (2007) confirma-se que, para leites de teor proteico menor, o tempo de coagulação e a consistência do gel são inferiores. A consistência do gel depende da composição do leite e, por esse motivo, foi superior em raças nacionais, pois têm teores de proteína mais elevados. Deste modo, verificou-se também que leites da raça Assaf tinham uma velocidade de agregação micelar menor e valores mais baixos de consistência do gel.

Os leites de raças autóctones são mais ricos em sólidos, e por sua vez, mais ricos em matéria útil para fabrico de queijo, proporcionando, portanto, consistências de coalhada mais elevadas. No entanto, o início de coagulação em raças autóctones é mais lento, com velocidades de agregação micelar significativamente mais elevadas (Martins *et al.*, 2005). Segundo os autores, estes factos sugerem a necessidade de se promoverem adaptações de fabrico quando leites crus de composições distintas são utilizados no fabrico do mesmo tipo de queijo tradicional.

Além dos factores relacionados com a produção animal que influenciam a composição do leite, também diferentes aspectos na tecnologia de fabrico podem alterar o rendimento, tais como a armazenagem do leite, a standartização e o tratamento térmico, a homogeneização, o tipo de coagulante, a firmeza da coalhada ao corte, a adição de sal ou a humidade perdida durante a cura (Park & Haenlein, 2006). Como se vê, são inúmeros factores que são tecnologicamente importantes e que há necessidade de controlar, em função da influência esperada consoante o tipo de queijo.

3.3.3. Qualidade Higiénica

A qualidade dos produtos lácteos está inteiramente relacionada com a qualidade microbiana. Esta afirmação é especialmente verdadeira quando os produtos são queijos fabricados a partir de leite cru de ovelha (Park & Haenlein, 2006).

Industrialmente, o tratamento térmico no leite elimina os microrganismos patogénicos e diminui o nível bacteriano, tornando a matéria-prima segura a nível sanitário e a nível tecnológico. No caso da utilização de leite cru, os riscos para a saúde ou os riscos tecnológicos apenas se eliminam evitando as contaminações, trabalhando em condições adequadas desde o estábulo até à utilização do leite e à transformação.

Pode afirmar-se que maior parte dos acidentes de fabrico de queijo, desde os ligados à coagulação e às características da coalhada até aos que aparecem mais tarde na cura, têm como causa primária a deficiente qualidade higiénica, embora se apontem muitas vezes causas ligadas à tecnologia, às condições de cura ou até à alimentação dos animais (Martins & Vasconcelos, 1993).

Segundo Emaldi (1997), é difícil classificar com exactidão a influência da qualidade microbiológica em leite cru de ovelha, devido à extensa variedade e número de bactérias predominantes na microbiota do leite e os processos característicos do fabrico de queijo. É possível, por exemplo, obter queijos de qualidade com leites com uma elevada carga microbiana.

A qualidade bacteriana é um dos factores mais variáveis na indústria dos lacticínios e para ser resolvido é necessário que o leite provenha de animais isentos de doenças, que a ordenha seja feita higienicamente e que o leite seja devidamente arrefecido. É difícil controlar o risco de contaminação destas práticas quando as condições de produção são rudimentares. A qualidade do leite além de ser afectada por contaminantes exteriores (ambiente) também se pode alterar devido a outro tipo de contaminantes como células somáticas e antibióticos, que por sua vez também inibem as bactérias lácticas.

O leite de reduzida qualidade microbiana possui uma elevada carga microbiana que varia em número e espécies de acordo com as condições de produção animal (tempo, alimentação, estado de lactação, saúde do animal, sistema de manejo animal) (Emaldi, 1997; Kalantzopoulos, 2004). O tipo e número de bactérias podem resultar em queijos mais apreciados organolêpticamente mas faz variar a qualidade dos queijos (Emaldi, 1997).

Sob o ponto de vista higiénico, a produção de leite de ovelha apresenta condições mais difíceis que a produção de leite de vaca. A contaminação primária pode ser mais importante em leite de ovelha que em leite de vaca, visto que para obter a mesma quantidade de leite é necessário ordenhar um maior número de animais, o que aumenta o risco de contaminação (Martins & Vasconcelos, 1993; Kalantzopoulos, 2004). As bactérias do leite podem provir das mais variadas fontes de contaminação, tais como ambiente, fezes dos animais, infecções mamárias ou por microbiota natural das glândulas mamárias, falta de higiene dos animais, equipamento de ordenha ou mesmo do tratador. (Behmer, 1981; Stancheva, 1995) e, portanto, a maior manipulação aumenta o potencial de contaminação.

A Confédération du Roquefort refere variações da microbiota, do leite de ovelha, muito acentuadas, apontando como grandes causas a qualidade das forragens, as instalações do gado, a higiene da sala de ordenha, o estado sanitário dos animais e a conservação do leite após ordenha (Martins & Vasconcelos, 1993). Estes autores chamam a atenção de que o modo como se usam os equipamentos é fundamental, realçando o papel dos cuidados higiénicos, referindo que, por exemplo, uma ordenha mecânica funcionando em deficientes condições pode ser mais prejudicial do que uma ordenha manual efectuada com um mínimo de cuidados.

Apesar do estado sanitário do animal também influenciar os aspectos microbiológicos do leite, os principais factores de influência são a higiene de todo o ciclo de produção e a conservação do leite (Martins & Vasconcelos, 1993).

A conservação do leite sob refrigeração pode ser a melhor solução para prevenir o efeito da presença dos microrganismos presentes no leite pois, no seguimento das diferentes operações, ordenha, transporte e conservação, o leite é contaminado por diferentes microrganismos e apenas alguns se desenvolvem mais ou menos activamente dependendo se as condições do meio são favoráveis para o seu crescimento (Martins & Vasconcelos, 1993).

A actividade de alguns microrganismos que contaminam o leite contribui activamente para as mudanças físico-químicas e organolêpticas quer do leite quer dos produtos dele derivados. Por outro lado, a actividade microbiana incontrolada é prejudicial porque pode produzir fermentações que tornam o leite e seus derivados impróprios para consumo (Mimoso & Firme, 1994). Leite ordenhado com pouca ou nenhuma higiene fermentará rapidamente e a acidez do leite será elevada, dando origem a um mau produto final (Behmer, 1981).

O leite de ovelha tem um período bacteriostático superior ao de vaca pois consegue atrasar mais tempo a fermentação láctica devido ao seu elevado conteúdo global mineral e nível de fosforilação nas proteínas (Kalantzopoulos, 2004). As propriedades acidificantes do leite de ovelha diferem muito das outras espécies. O crescimento microbiano é atrasado pela sua elevada actividade imunológica e além disso possui um forte poder tampão (Kalantzopoulos, 1993).

Alichanidis & Polychroniadou (1997) confirmaram um ligeiro aumento da acidez natural em leite de ovelha comparado com o leite de vaca, devido ao seu elevado teor de proteína. A acidez do leite é influenciada pela higiene e condições climáticas de produção. A elevada variabilidade da acidez titulada, ao longo da lactação, é indicador de fracas condições de higiene durante a ordenha, pois a acidez é um interessante indicador da presença de microrganismos no leite e das condições de conservação do mesmo.

Foi estabelecida correlação significativa entre a acidez e o pH. Manfredini *et al.* (1993) verificaram baixos valores de pH para ovelhas no início da lactação, comparativamente ao final da lactação (6,57), enquanto a acidez mostrou tendência oposta (8,78 °SH: 5,97 °SH).

O leite deve ser produzido em condições higiénicas, de forma a evitar a acidificação e a presença de patogénicos. Além disso, o arrefecimento rápido e eficaz do leite é fundamental para a sua qualidade (Emaldi, 1997).

Para uma boa qualidade do leite cru, este deve ser arrefecido adequadamente e rapidamente de forma a retardar o desenvolvimento microbiano e potencial acção de enzimas do leite, tal como lipases ou proteases. Este arrefecimento deve ser feito a temperaturas inferiores a 7 °C e o óptimo seria mesmo a temperatura inferior a 4 °C, por exemplo, 2-3 °C. O Regulamento nº 853/2004 refere que, "imediatamente após a ordenha, o leite deve ser mantido num local limpo, concebido e equipado de modo a evitar qualquer contaminação. Deve ser arrefecido imediatamente não excedendo os 8°C, no caso de a recolha ser feita diariamente, ou não excedendo os 6°C, caso a recolha não seja feita diariamente. Durante o transporte, deve ser mantida a cadeia de frio e, à chegada ao estabelecimento de destino, a temperatura do leite não deve ser superior a 10°C." O referido regulamento considera ainda que "os operadores das empresas devem assegurar que, logo após a sua admissão num estabelecimento de transformação, o leite seja rapidamente arrefecido a uma temperatura não superior a 6°C e mantido a essa temperatura até ser transformado, a não ser que a transformação tenha início imediatamente após a ordenha ou nas 4 horas seguintes à admissão no estabelecimento de transformação, ou se a autoridade competente autorize uma temperatura mais elevada por razões de ordem tecnológica ligadas ao fabrico de determinados produtos lácteos."

Martins & Vasconcelos (1993) chamam, no entanto, à atenção que a refrigeração não melhora a qualidade do leite, apenas a mantém, podendo ser até prejudicial se for mal conduzida.

Existem ainda bactérias que se podem desenvolver durante a conservação do leite, se esta etapa não for bem controlada. As bactérias psicotróficas desenvolvem-se principalmente acima de 4 °C e em períodos de armazenagem longos (36 a 48 horas), sendo causadoras de defeitos durante a cura dos queijos, pois produzem enzimas (lipases e proteases), as quais são resistentes ao calor (Sá & Barbosa, 1990; Garcia-Armesto *et al.*, 1994) e, por isso, constituem não só um problema no fabrico de queijo de leite cru, como também o seu efeito se reflete no fabrico de queijo a partir de leite pasteurizado. Deve ser ainda considerado o efeito prejudicial da refrigeração prolongada no estado das micelas de caseína, já abordado em capítulo anterior.

A regulamentação europeia (Reg.nº853/2004) também refere, para leite de ovelha, limites de carga microbiana total, avaliada pela contagem de mesófilos a 30 °C, de 500.000 ufc/mL, no caso de leite de ovelha destinado ao fabrico de produtos com leite cru. Na realidade, esta é uma indicação genérica que pretende limitar o potencial de alteração de características do leite pois, na verdade, o mais importante é conhecer o tipo de microbiota existente, por exemplo, como os psicotróficos, pois podem influenciar a qualidade/composição do leite e por sua vez dificultar o fabrico e criar defeitos no queijo (Garcia-Armesto *et al.*, 1993).

Apesar dos riscos associados ao fabrico de queijo a partir do leite cru, este tipo de actividade tem como base a ideia do aproveitamento do potencial da microbiota útil autóctone, que funciona como factor de tipicidade e permite a diversidade de produtos existentes, grande parte dos quais beneficia de protecção conferida pelos mecanismos da Designação de Origem Protegida (DOP) estabelecidos a nível europeu (Bertozzi & Panari, 1993; Bertozzi, 1995).

Nestas condições, o conceito de qualidade higiénica do leite não pode ser expresso como a necessidade de evitar todo o tipo de contaminação do leite e exigir a menor carga microbiana possível. Torna-se mesmo essencial existir alguma carga microbiana no leite para o fabrico do queijo, mas o que interessa é a qualidade da microbiota e não a quantidade. Deseja-se muita população nativa microbiana útil, ao mesmo tempo que é indesejável a presença de patogénicos e outros microrganismos prejudiciais, em regra de natureza Gram negativos (Kalantzopoulos *et al.*, 2004), e também, por exemplo, de psicotróficos.

Por isso, neste tipo de actividade, é necessário grande cuidado na interpretação dos resultados analíticos quando se avalia ou selecciona o leite para fabrico de queijo. As contagens microbianas totais devem ser complementadas com outros indicadores sobre o tipo de microbiota presente, o que nem sempre é suficientemente prático e rápido, nem, muitas vezes, as queijarias têm condições técnicas para a correcta interpretação dos resultados.

À semelhança do que acontecia há muitos anos na classificação do leite de vaca para utilização na indústria, nas queijarias podem utilizar-se métodos de avaliação da carga microbiana do leite que sejam simples, rápidos e de baixo custo, e que permitam determinar a

qualidade bacteriológica dos leites recebidos (Luck & Gavron, 1990). O método mais utilizado e eficaz é o teste do azul de metileno, que, no entanto, tem sido questionado quanto ao seu uso para leites de ovelha e nas condições actuais de produção (higiene e refrigeração) (Prentice & Langridge, 1992).

Já foram estabelecidas diferentes classificações para a redução do azul de metileno, que dependem do tipo de queijo que se pretende e do tipo de leite utilizado. Como exemplo a Directiva Europeia 92/46 do Conselho (16 de Junho) classificou os leites como satisfatórios ou não satisfatórios se estes reduzirem num tempo inferior ou superior a duas horas e meia, respectivamente. Outra classificação, elaborada por Filev, classifica os leites como maus, satisfatórios ou excelentes se estes reduzirem a menos de 1 hora, entre 1 a 3 horas ou 4 a 6 horas, respectivamente (Garcia-Armesto *et al.*, 1994).

A questão, para os queijos de leite cru, coloca-se exactamente num contexto em que a melhor qualidade do leite não será a inexistência de microbiota ou níveis muito baixos de presença de microrganismos, mas sim a predominância de microrganismos úteis para o fabrico de queijo.

Uma possibilidade, para esse fim, é, por exemplo, quantificar grupos específicos de microrganismos ou complementar uma prova indirecta, como a redução do azul de metileno, com um teste qualitativo, como a prova da lactofermentação. Esta prova foi desenvolvida há muitos anos em França, para avaliar a qualidade do leite para queijo obtido por via ácida, bem como, também, a qualidade do coagulante utilizado nesse tipo de fabricos, e permite a observação de critérios de classificação como a coagulação do leite, a formação de gás ou a presença de microrganismos proteolíticos (Chavannes & Demont, 1945; Behmer, 1981).

Com alguma adaptação dos critérios de classificação, uma vez que os queijos tradicionais portugueses são de natureza diferente, este tipo de prova poderia ser útil na avaliação do tipo de microbiota, pois trata-se de um procedimento muito simples, que não necessita de equipamento especializado.

Em França, existe um índice desenvolvido pelo INRA que pretende fazer exactamente este tipo de avaliação em leite cru e classificá-lo pelo seu potencial tecnológico (Montel, 2012).

III. MATERIAS E MÉTODOS

1. Breve descrição da Queijaria

Este trabalho teve como objectivo a avaliação das propriedades tecnológicas do leite utilizado no fabrico de queijo numa queijaria, localizada na região de Azeitão, na área delimitada para a produção de queijo de Azeitão DOP, a qual colheu e forneceu as amostras dos leites para análise referentes aos lotes utilizados no dia de colheita na queijaria.

Os leites fornecidos na queijaria provinham de 7 explorações distintas, cada uma identificada com códigos de 3 dígitos (209, 129, 113, 192, 132, 162 e 212) e as misturas de leite foram identificadas pela sigla M. Todas as explorações dispunham de ovelhas de raça Lacaune, à excepção do produtor 209, com ovelhas de raça Bordaleira Saloia, e dos produtores 132 e 192, com mistura de diversas raças; todos os produtores são da região de produção de queijo de Azeitão, à excepção dos produtores 192 e 212.

A queijaria produzia essencialmente queijo de Azeitão DOP, no entanto também tinha como rendimentos secundários, a produção de requeijão e manteiga de leite de ovelha, resultantes dos subprodutos do fabrico de queijo.

2. Recolha e preparação das amostras

Todas as amostras de leite foram fornecidas e recolhidas, em frascos previamente esterilizados, correspondendo cada amostra a um lote de leite utilizado para a produção de queijo nesse mesmo dia. Foram analisadas na totalidade 81 amostras de lotes diferentes, correspondendo 14 das amostras a leites de mistura e os restantes a leites individuais. O período do ensaio decorreu de Fevereiro até fim de Maio e as amostras eram transportadas para o laboratório em geleiras, mantendo as amostras refrigeradas, não ultrapassando, entre a colheita e a chegada das amostras ao laboratório, um período de tempo superior a 8 horas. À chegada ao laboratório, as amostras eram imediatamente colocadas em refrigeração a 4 °C, sendo analisadas no dia seguinte ou mesmo no próprio dia. Antes de realizar qualquer análise laboratorial, as amostras eram aquecidas, durante um curto espaço de tempo, a 37 °C para se poder homogeneizar convenientemente a amostra. Posteriormente eram arrefecidas a 20 °C, temperatura padrão laboratorial, e a amostra era dividida para análise microbiológica e para análise físico-química e avaliação da aptidão tecnológica.

3. Métodos de Análise

3.1 Análise Microbiológica

Na análise microbiológica, as amostras e todo o material eram manipulados em câmara esterilizada e de ar controlado, sendo também todos os utensílios laboratoriais necessários previamente esterilizados.

Para todas as amostras foi determinada a Contagem de mesófilos totais a 30 °C, de acordo com a norma *NP-459 (1989)*. Além disso, as amostras também foram avaliadas em comparação com o Teste da redução do azul de metileno (*NP-456, 1983*) e a prova da Lactofermentação (Chavannes & Demont, 1945), provas qualitativas que permitem, antes da obtenção das contagens microbianas, ajuizar das características microbianas principais do leite.

De facto, o tempo de redução do azul de metileno pode permitir avaliar de forma qualitativa e rápida a carga microbiana de cada amostra, desde que estejamos alertados para as limitações e, portanto, para as restrições de interpretação dos resultados. Por isso, utilizando os mesmos tubos de ensaio, foi efectuada a prova da lactofermentação, prova simples e rápida que, em 24 horas, permite avaliar o efeito da microbiota existente sobre o leite, como por exemplo, a formação e o tipo de coágulo formado, dando-nos a indicação do tipo de microbiota bacteriana existente. A presença de coliformes é detectada através da formação de gás ou a presença de microrganismos proteolíticos, a partir da digestão da proteína. Ambas as provas são qualitativas mas, como não necessitam de meios analíticos complexos, podem ser realizadas na própria queijaria, com a vantagem de proporcionarem resultados mais rapidamente.

A meio do trabalho experimental, devido a resultados estranhos para algumas das amostras analisadas, como seja o facto de contagens microbianas elevadas não originarem coagulação do leite ao fim de 24 horas na prova da lactofermentação, decidiu-se proceder em algumas colheitas à contagem de psicrótrófos a 22 °C, de acordo com a norma *ISO/DIS 8552 (1986)*, uma vez que praticamente todo o leite recebido na queijaria era previamente refrigerado.

3.2. Análise Físico-química

No início do trabalho experimental, após homogeneização das amostras a 37 °C e posteriormente mantidas a 20 °C, procedeu-se às análises físico-químicas em laboratório, realizando os seguintes parâmetros de análise:

- **pH** – através de um potenciómetro *Metrohm 713 pH Meter (Herisau, Swiss)*;
- **Acidez** – de acordo com a norma *NP - 470 (1983b)*;

-
- **Densidade** – de acordo com a norma NP - 474 (1983c);
 - **Matéria Gorda** – de acordo com a norma NP - 469 (1983a);
 - **Proteína Bruta** – de acordo com a norma NP - 1986 (1991);
 - **Resíduo Seco Total e Resíduo Seco Isento de Matéria Gorda** – de acordo com a norma NP - 475 (1983d);

A meio do trabalho, os parâmetros Proteína Bruta, Matéria Gorda, Resíduo Seco Total e Resíduo Seco Isento de Matéria Gorda passaram a ser determinados através do *Milkoscan 133B* (Foss, Denmark), aparelho especializado para análise de leite, que determina directamente a maioria destes teores no leite, através da absorção na gama da radiação de infravermelhos. Apenas os teores de resíduo seco são determinados indirectamente, sendo calculados por diferença.

3.3. Aptidão tecnológica

A aptidão tecnológica do leite para fabrico de queijo foi avaliada pelo comportamento do leite ao longo da coagulação, utilizando o Optigraph (Ysebaert Dairy Division, Frepillon, France), aparelho que permite determinar os diferentes tempos característicos e monitorizar a evolução das fases fundamentais da coagulação do leite, permitindo avaliar a sua qualidade tecnológica. Este aparelho, que simula em laboratório a coagulação do leite numa cuba, já foi antes utilizado em trabalhos experimentais e pode fornecer, entre outros, os seguintes parâmetros que foram utilizados no trabalho experimental:

- **R** – Início da floculação/coagulação (tempo, m);
- **OK20** – tempo, após R, necessário para a obtenção de uma consistência padrão (neste caso, equivalente a 6,5 Volt), cujo inverso representa a taxa ou velocidade de agregação micelar;
- **AR** – Consistência do gel (Volt) ao fim de um tempo equivalente a 2R;
- **A2R** – Consistência do gel (Volt) ao fim de um tempo equivalente a 3R;
- **A₂₀** – Consistência do gel (Volt) ao fim de 20 minutos;
- **A₄₀** – Consistência do gel (Volt) ao fim de 40 minutos

Cada amostra era colocada em banho de água a 32 °C, temperatura estabelecida para os ensaios de coagulação, durante cerca de 30 minutos, ao fim do qual se colocavam 10 mL de amostra em cada célula de coagulação. A cada célula era adicionado 1 mL de coagulante (solução aquosa, a 0,08% m/v, de coagulante em pó contendo 96±2% de quimosina, *Extracto de cuajo en polvo Granday*® 6000, Gist Brocades), de forma a simular a operação de coagulação do leite (Alves, 2003; Ramos, 2009).

3.4. Análise de Resultados

Os resultados foram avaliados através dos parâmetros habituais da estatística descritiva, tendo sido ainda usada a análise de variância, utilizando o programa *Statistica*™ (Statsoft, USA), para avaliação do efeito do produtor e do mês nas diferentes propriedades e características do leite, e usando o teste de Tukey para comparação entre os níveis dos factores, para níveis de significância de 95% e 99%.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.Características Físico-químicas e Microbiológicas

1.1. Médias Globais

A partir de todas amostras utilizadas neste ensaio podemos retirar algumas informações sobre as características genéricas do leite utilizado habitualmente, na queijaria, como matéria-prima para o fabrico de queijo.

O Quadro VIII resume as médias calculadas para os parâmetros físico-químicos analisados e ainda da contagem microbiana efectuada, em todo o trabalho experimental. Os resultados obtidos estão em conformidade com a bibliografia consultada (Martins, 1989; Alichanidis & Polychroniadou, 1997; Martins *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2007; Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008), sendo valores esperados para leite de ovelha. No entanto, existem alguns parâmetros com interesse a referir, principalmente o valor máximo de proteína bruta obtido, pois é um valor baixo comparativamente com outros ensaios efectuados, demonstrando-nos assim o impacto da evolução do sector da produção animal, que ao integrar animais de raças de maior potencial de mais produção de leite e sistemas de produção mais intensivos, vem promovendo a diminuição do teor proteico. No fabrico de queijo, a proteína é um componente essencial e cada vez mais é necessário ter em conta este factor, visto que valores baixos de proteína não conduzem a benefícios para a produção queijeira, quer quantitativos, quer qualitativos.

Quadro VIII – Composição média físico-química e contagem microbiana do leite de ovelha utilizado no ensaio

	Acidez mLNaOH M/L	pH	Densidade (20°C)	RST (%m/m)	RSIMG (%m/m)	MG (%m/m)	PB (%m/m)	CMT (ufc/mL)
Média	25	6,63	1,0342	17,81	10,90	6,93	5,18	4,8E+06
Desv.Pad.	2	0,07	0,0012	0,83	0,39	0,66	0,34	3,4E+07
Coef.Var(%)	9	1	0	5	4	9	7	708
Máx.	35	6,78	1,0372	20,49	11,88	9,02	5,98	1,4E+08
Min.	20	6,24	1,0318	15,13	9,81	5,5	4,53	1,9E+04
N	82	82	82	82	82	82	82	79

Relativamente aos índices de frescura e higiene do leite, o valor máximo da acidez (35 mL NaOH M/L) e mínimo do pH (6,24), correspondem à mesma amostra e não são valores característicos de um leite de ovelha de qualidade, podendo deduzir-se que existem problemas, pelo menos pontualmente, a nível da higienização e/ou conservação do leite, na

exploração ou na queijaria. Seria de esperar que estes valores correspondessem ao valor máximo da contagem de mesófilos totais a 30 °C, mas o mesmo não se verificou. O valor máximo obtido ($1,4 \times 10^8$ ufc/mL) pertence a uma amostra com valores relativamente normais de acidez (28 mL NaOH M/L) e pH (6,60), o que sugere que pode ter sido devido a contaminações ulteriores à ordenha ou mesmo por conservação imprópria do leite. No entanto, esta amostra deveria conter um elevado número de microrganismos não produtores de ácido, visto que os valores de pH e acidez são normais. Esta aparente discrepância entre resultados, que se repetiu várias vezes ao longo do período de amostragem, motivou que, num momento limitado de colheita de amostras se efectuasse a contagem de microrganismos psicotróficos (pesquisa rápida de psicotróficos, com incubação a 21 °C durante 24h, conforme a norma ISO/DIS 8552) de tipo não acidificante e muito comuns em leites refrigerados. Os resultados mostraram que a maior parte dos microrganismos detectados pela contagem de mesófilos totais a 30 °C poderiam pertencer a esse grupo, não provocando no leite as alterações características da má conservação do leite, aumento da acidez e diminuição de pH. Recorde-se que as bactérias psicotróficas são extremamente prejudiciais para o queijo, pelas alterações que podem provocar.

Observando a média da contagem microbiana verificamos também que é muito superior ao limite exigido pelo Regulamento (CE) nº 853/2004 (500.000 ufc/mL), no entanto correspondem a valores usuais obtidos para leites de pequenos ruminantes. Além disso, é importante referir, novamente, que também é necessária a existência da microbiota natural do leite para o fabrico do queijo de leite cru. Contudo, a qualidade microbiana do leite é fundamental, pois uma microbiota não desejada pode provocar danos irreparáveis nos produtos obtidos no final do processo tecnológico. Assim, é da máxima importância que a queijaria, realize avaliações contínuas ao leite fornecido, de forma a conhecer por inteiro a matéria-prima em utilização e, por sua vez, incentivar também o produtor a melhorar as condições higiénicas das suas instalações e/ou equipamentos de conservação do leite. O ideal, à semelhança do que se passa nos sectores de produção de leite mais evoluídos (leite vaca), seria a selecção do leite em função das suas características, quer físico-químicas, quer microbiológicas.

Conjuntamente com os outros parâmetros analisados, também se utilizou o teste de redução do azul de metileno, concedendo-nos uma visão geral da qualidade microbiana do leite fornecido. A Figura 4 exemplifica as três categorias empregadas e a respectiva percentagem de resultados obtidos durante o período de amostragem. Tal como se pode verificar a maioria (64,63%) do leite analisado neste ensaio é de baixa qualidade microbiana, o que pode prever consequências futuras no desempenho tecnológico destes leites.

Como já foi referido anteriormente, na utilização de leite cru para fabrico de queijo, a qualidade microbiana do leite é muito importante mas também específica, pois depende do tipo de queijo que se quer fabricar e do tipo de microbiota presente. No geral, o leite cru só é, realmente,

considerado de qualidade quando a redução do azul de metileno é superior a 5 horas, mas no sector do fabrico de queijo a partir de leite cru, isso pode significar falta de microbiota para a evolução adequada do queijo. Neste caso, para esta prova muito simples de executar, os resultados mais adequados poderiam ser tempos de redução do azul de metileno entre 2 e 4 horas, naturalmente na dependência do tipo de microbiota presente.

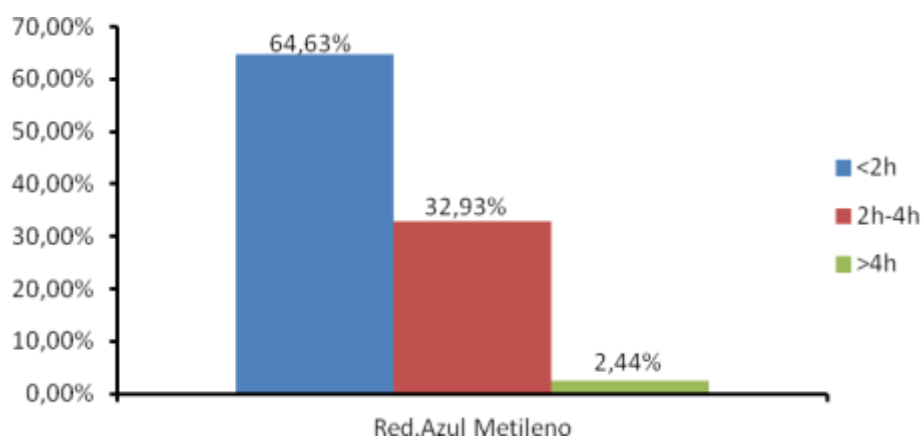


Figura 4 – Valores percentuais da redução do azul de metileno durante o ensaio experimental

1.2. Médias mensais

Avaliando a composição do leite, mensalmente, consegue-se observar a variação de cada parâmetro analisado.

Os teores de proteína e gordura, como se pode verificar na Figura 5, foram diminuindo ao longo dos meses, tendência contrária ao efeito do estado de lactação, como já foi referido. No entanto, as variações da proteína foram mais sentidas em Fevereiro (CV=6,5%), enquanto a gordura variou mais no último mês, em Maio (CV=11,2%). Estas variações vão certamente influenciar as propriedades tecnológicas do leite, como é de prever, com teores proteicos inferiores a originarem rendimentos queijeiros inferiores e coalhadas de qualidade inferior. No Quadro IX podemos observar que em Fevereiro a média obtida para o teor proteico foi significativamente superior à obtida nos outros meses em análise, enquanto para a matéria gorda não apresentou diferenças significativas entre meses.

Quadro IX – Médias mensais da composição físico-química e contagem microbiana do leite fornecido na queijaria

		Acidez mLNaOH M/L	pH	Densidade (20°C)	RST (%m/m)	RSIMG (%m/m)	MG (%m/m)	PB (%m/m)	CMT (ufc/mL)
Fevereiro	Média	24	6,71 ^a	1,0349 ^a	18,28	11,02	7,20	5,53 ^a	3,3E+06
	Desv.Pad.	2	0,07	0,0009	0,95	0,48	0,63	0,36	3,4E+07
Março	Média	25	6,63 ^b	1,0348 ^b	17,73	10,83	6,90	5,19 ^b	9,8E+06
	Desv.Pad.	3	0,08	0,0013	0,81	0,46	0,64	0,27	3,9E+07
Abril	Média	25	6,63 ^{ab}	1,0339 ^{ab}	17,94	10,97	6,98	4,93 ^b	8,3E+05
	Desv.Pad.	1	0,04	0,0009	0,53	0,24	0,53	0,24	4,8E+06
Maio	Média	25	6,62 ^b	1,0332 ^b	17,77	10,87	6,67	4,97 ^b	4,0E+06
	Desv.Pad.	2	0,04	0,0009	0,87	0,20	0,75	0,29	3,2E+07

Nota: letras diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas entre as médias mensais (p < 0,05)

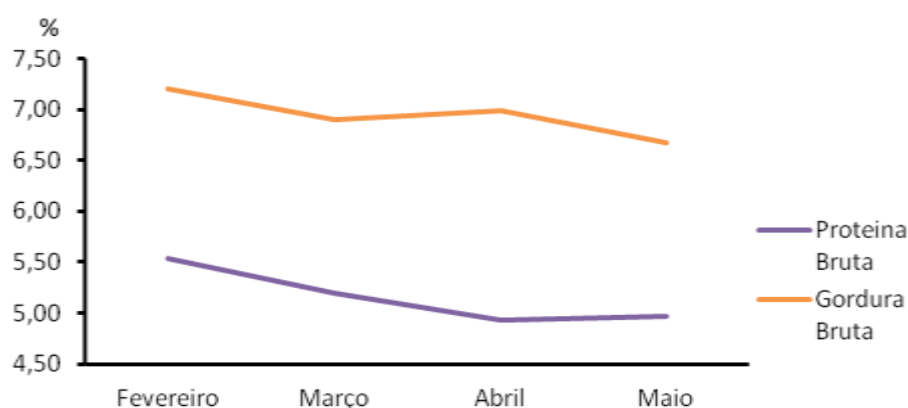


Figura 5 – Variação média da gordura e proteína bruta entre Fevereiro e Maio

Em contraste, os parâmetros de contagem de mesófilos totais, o pH e a acidez não apresentaram uma tendência definida, variando muito em cada mês; destes parâmetros, apenas o pH se apresentou significativamente diferente em Fevereiro, sobretudo quando comparado com Maio. Esta variação constante pode reflectir falta de características higienossanitárias do leite utilizado na queijaria, as quais, por sua vez, podem ser explicadas pela falta de higiene nas explorações ou mesmo por conservação imprópria do leite. A variação da acidez e do pH foi maior nos primeiros dois meses, como se pode verificar pelo desvio padrão

calculado para as respectivas médias (Quadro IX); estes dois parâmetros evoluem ao longo do tempo de forma oposta (Figura 6), como é habitual.

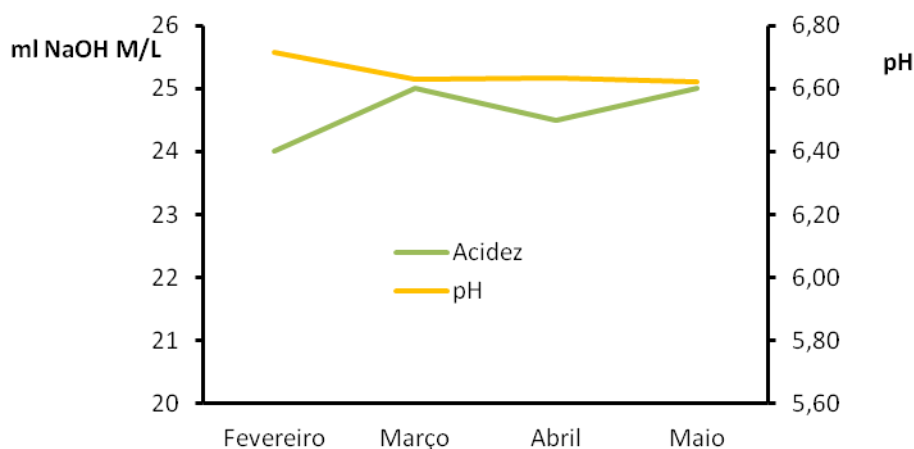


Figura 6 – Variação média da acidez e do pH entre Fevereiro e Maio

O pH é reconhecido como um indicador da qualidade sanitária e estabilidade térmica do leite, por isso as variações deste parâmetro são importantes; estão dependentes das variações da composição físico-química do leite e das condições de produção do mesmo. Uma pequena variação no pH pode alterar o equilíbrio salino-proteico do leite e, por essa via, alterar o comportamento do leite no fabrico de queijo.

As contagens de mesófilos totais estão em constante variação e com médias bem superiores ao limite exigido por lei (Figura 7), o que nos comprova, mais uma vez, que a qualidade microbiana dos leites utilizados na queijaria era muito deficiente.

Durante o trabalho experimental, como já foi referido no capítulo anterior, procedeu-se à contagem de psicrotróficos totais de algumas amostras, com valores de CMT muito elevados, para tentar perceber a origem do excesso de microrganismos. De facto, os resultados confirmaram a presença de psicrotróficos como microbiota dominante dessas amostras, permitindo-nos chegar à conclusão que o problema pode não ser apenas da higiene das explorações mas sim da posterior conservação, seja por parte do produtor e/ou da queijaria. Deste modo, a qualidade higiénica dos leites deveria ser mais controlada pela queijaria, alertando os fornecedores de leite do problema em questão e descontando no pagamento do leite ou mesmo rejeitando o leite de alguns fornecedores, e ainda promovendo o controlo da eficácia da refrigeração do leite.

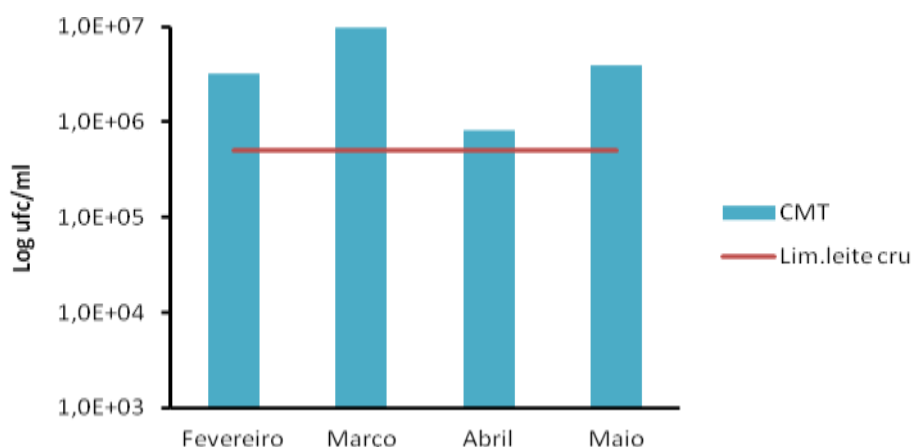


Figura 7 – Variação mensal da contagem de mesófilos totais.

Assim, poder-se-ia evitar a contaminação e o crescimento de microrganismos à margem da microbiota natural do leite, como os psicrotróficos, que por sua vez, não são eliminados no processo de fabrico e originam problemas posteriores, na maturação dos queijos, com aspecto e sabor anormais irreversíveis.

1.3. Médias por produtor e por lotes

Após uma abordagem geral da composição do leite utilizado na queijaria, iremos analisar de seguida as características físico-químicas dos lotes de leite utilizados para a produção de queijo no dia de colheita de amostras, quer sejam lotes de leite elaborados apenas com leite de um produtor, quer sejam leites de mistura (lotes com leites de dois ou mais produtores).

Infelizmente não houve a possibilidade de conhecer todas as explorações, sistemas de produção animal e as respectivas raças produtoras do leite fornecido por cada exploração, que poderiam complementar alguns dos comentários que os resultados obtidos merecem.

Neste trabalho foram analisadas 81 amostras de lotes diferentes, em que 14 amostras eram de leites de mistura e os restantes de leites individuais. Foram utilizados leites de 7 explorações distintas, cada uma identificada com códigos de 3 dígitos (209, 129, 113, 192, 132, 162 e 212) e as misturas de leite foram identificadas pela sigla M. Todas as explorações dispunham de ovelhas de raça Lacaune, à excepção do produtor 209, com ovelhas de raça Bordaleira Saloia, e dos produtores 132 e 192, com mistura de diversas raças; todos os produtores são da região de produção de queijo de Azeitão, à excepção dos produtores 192 e 212. Os resultados médios obtidos para os diferentes parâmetros estão resumidos no Quadro X, verificando-se que todos os parâmetros avaliados foram significativamente ($p < 0,01$) influenciados pela origem do leite (produtor), com excepção do pH e da densidade.

Quadro X – Média da composição físico-química e contagem microbiana de leites individuais e de mistura

Lotes		Acidez mLNaOH M/L	pH	Densidade (20°C)	RST (%m/m)	RSIMG (%m/m)	MG (%m/m)	PB (%m/m)	CMT (ufc/mL)
209	Média	24 ^b	6,66	1,0348	18,42 ^a	11,00 ^{ab}	7,65 ^a	5,32 ^{ab}	4,3E+07 ^{ab}
	Desv.Pad.	2	0,05	0,0011	0,34	0,36	0,52	0,35	4,1E+07
129	Média	26 ^{ab}	6,63	1,0344	18,09 ^a	11,00 ^{ab}	7,15 ^{ab}	5,31 ^b	1,6E+07 ^b
	Desv.Pad.	2	0,05	0,0012	0,48	0,27	0,54	0,16	3,8E+07
113	Média	27 ^a	6,67	1,0356	18,30 ^a	11,31 ^a	7,23 ^{ab}	5,69 ^a	3,4E+06 ^a
	Desv.Pad.	1	0,08	0,0010	0,49	0,32	0,44	0,24	3,7E+06
192	Média	26 ^{ab}	6,55	1,0340	16,03 ^c	10,05 ^c	6,10 ^c	4,70 ^c	7,8E+07 ^b
	Desv.Pad.	5	0,18	0,0009	0,91	0,46	0,38	0,11	4,8E+07
132	Média	25 ^{ab}	6,62	1,0332	18,12 ^a	10,82 ^b	7,27 ^{ab}	5,16 ^b	1,6E+07 ^b
	Desv.Pad.	2	0,06	0,0009	1,01	0,37	0,74	0,27	2,5E+07
162	Média	24 ^{ab}	6,64	1,0341	17,19 ^b	10,82 ^b	6,28 ^c	4,81 ^c	1,1E+07 ^b
	Desv.Pad.	2	0,05	0,0009	0,20	0,17	0,24	0,09	3,1E+07
212	Média	23 ^{ab}	6,66	1,0330	17,97 ^{ab}	10,87 ^{ab}	6,84 ^{abc}	4,91 ^{bc}	5,0E+06 ^b
	Desv.Pad.	1	0,01	0,0008	0,15	0,14	0,18	0,05	4,1E+06
M	Média	25 ^{ab}	6,64	1,0346	17,59 ^{ab}	10,90 ^{ab}	6,78 ^{bc}	5,27 ^b	1,6E+07 ^b
	Desv.Pad.	2	0,05	0,0011	0,47	0,28	0,38	0,30	1,6E+07

Nota: letras diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas entre as médias por produtor (p <0,01)

Como se pode verificar, os leites 192 e 162 são os mais pobres, em termos de composição, sendo significativamente diferentes de todos os outros leites em RST, PB e MG. No entanto, o leite 192 tem os piores resultados, tanto a nível de composição como a nível higiénico. Os teores médios de proteína e gordura bruta são os mais baixos (Figura 8), promovendo rendimentos potenciais inferiores aos restantes leite, e a contagem de mesófilos totais deste leite é significativamente maior, o que evidencia a sua fraca qualidade microbiana, sobretudo para fabricos de queijo à base de leite cru.

O leite com melhor composição face ao fabrico de queijo é o proveniente do produtor identificado como 113, com valor médio de PB superior e significantivamente diferente dos outros leites (5,69 %), um valor médio de matéria gorda 7,23 % e níveis inferiores de CMT, apesar de ainda muito elevados ($3,4 \times 10^6$ ufc/mL). Tendo em conta que este leite provém de animais de raça Lacaune, raça exótica de alta produção, os valores observados são muito favoráveis.

Sabe-se que a exploração 209 tem animais de raça autóctone, nomeadamente raça Bordaleira Saloia, o que justifica os teores médios de PB e GB serem elevados, mas os produtores 129, 113 e 132 produziram leite com níveis interessantes de proteína para animais de raça Lacaune, nomeadamente o produtor 113. Também nos lotes produzidos com leites de mistura, a sua maioria continha pelo menos um dos leites 129 ou 209 o que também explica os teores de proteína e gordura serem mais elevados que alguns leites individuais. No entanto, o contraste de teor butiroso entre o leite 209 e a Mistura é bem evidenciado e significantivamente diferente ($p < 0,01$), o que nos pode demonstrar que as misturas de leites de diferentes origens podem prejudicar alguns parâmetros fundamentais para o fabrico de queijo.

Em todos os leites, a variação do teor butiroso é superior ao teor proteico, o que evidencia a variabilidade, já conhecida e referida anteriormente, da matéria gorda.

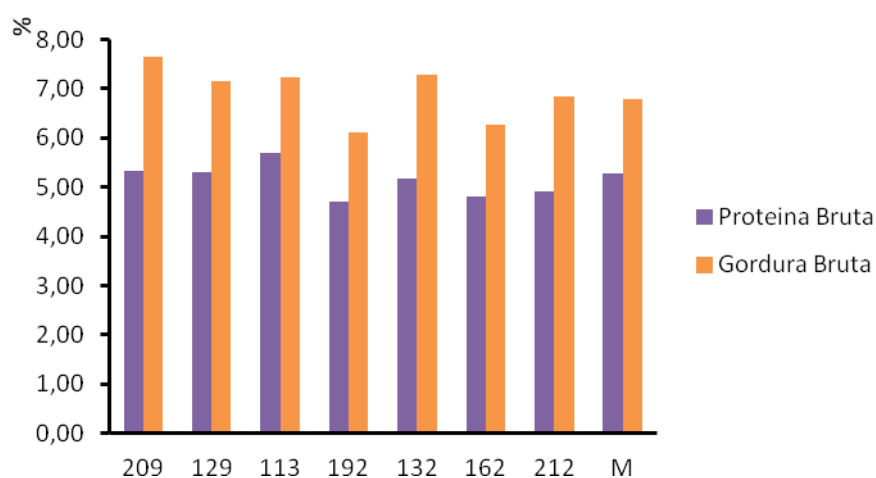


Figura 8 – Teores médios de proteína e gordura dos diferentes lotes

Analisando, individualmente a qualidade higiénica de cada leite, verificamos que todos os leites recebidos na queijaria são muito pobres. Relativamente à contaminação microbiana, expressa pela contagem de mesófilos totais, podemos afirmar que nenhuma média se encontra abaixo do limite exigido por lei, excedendo-o até por muito (Figura 9). No caso do fornecedor 192, além de ser o leite com maior carga microbiana, também é o que possui maior variação de pH e de acidez (Quadro X, Figura 10), o que indica a constante falta de qualidade higiénica do leite desta origem. Também foi detectada uma diferença significativa ($p < 0,01$) entre as médias da

acidez dos leites de 209 e 113, pois este último possui valores médios de acidez superiores (27 mL NaOH M/L), provavelmente pela influência do teor proteico que também é elevado (acidez natural mais elevada), visto que nas contagens microbianas não se verificaram diferenças significativas.

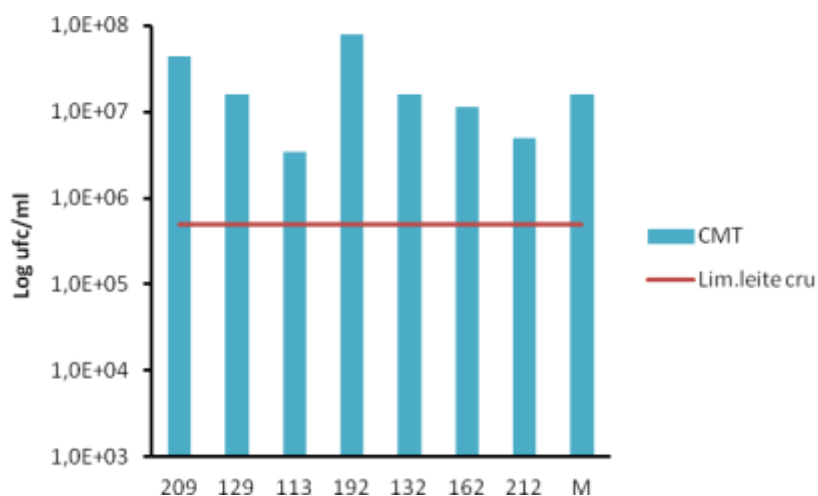


Figura 9 – Valores médios da contagem de mesófilos totais dos diferentes lotes

Quanto às misturas, constituídas por leites individuais diferentes, também se observa uma grande variação nas médias obtidas. Naturalmente a qualidade destes leites está inteiramente dependente da qualidade dos leites individuais e por esse motivo, também a carga microbiana ultrapassa o limite exigido por lei, o que implica que algumas das misturas revelem níveis de contaminação inferiores e, por isso, aparentemente condições mais favoráveis para o fabrico de queijo (Figura 11).

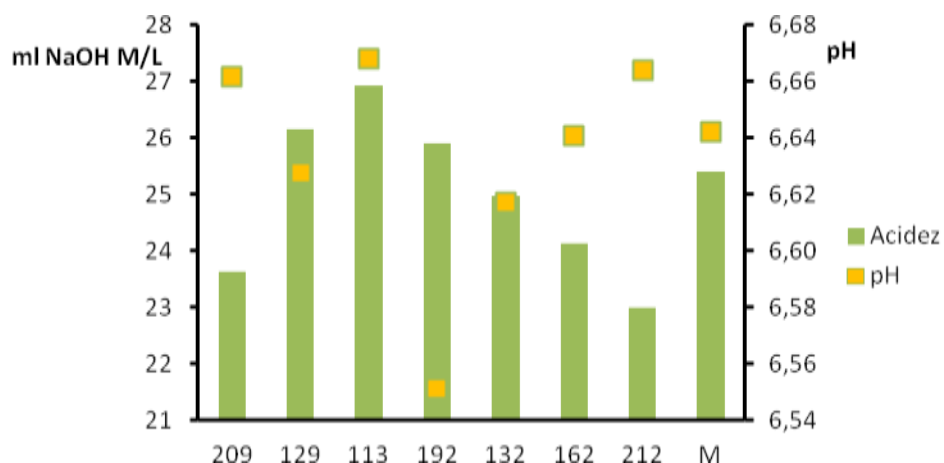


Figura 10 – Valores médios da acidez e pH dos diferentes lotes

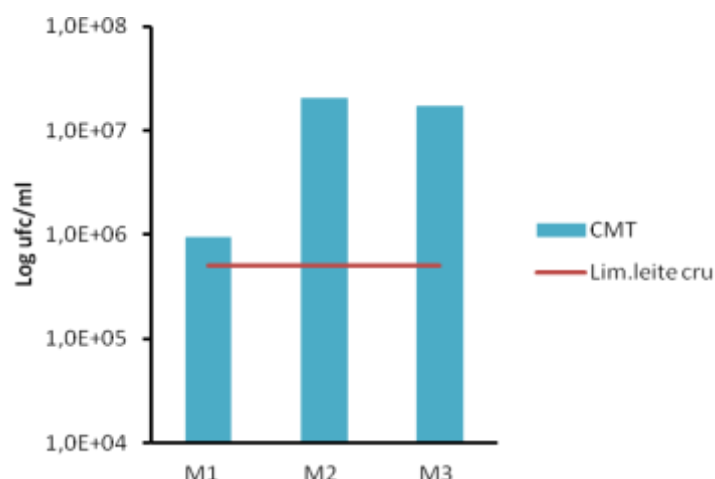


Figura 11 – Valores médios da contagem de mesófilos totais em diferentes leites de mistura

Outro parâmetro fundamental a ter em conta é o tipo de microrganismos. Observando a Figura 12, verifica-se que a maioria dos leites mostram redução do azul de metileno em menos de 2 horas, o que mostra que os leites não estão nas melhores condições para o fabrico de queijo de leite cru. O leite 212 é o que tem, possivelmente, uma melhor qualidade microbiana, seguidos do 162 e 129, os únicos fornecedores que proporcionaram leites com mais de 4 horas de redução do azul de metileno.

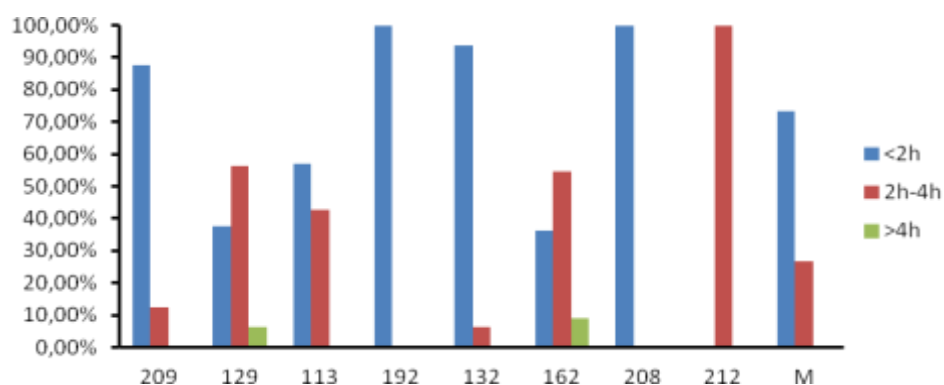


Figura 12 – Valores percentuais da redução do azul de metileno dos diferentes lotes

Em resumo, podemos verificar que, como se indica no Quadro XI, a origem do leite é um factor relevante no que se refere à composição do leite recebido na queijaria quando comparado com a época ou mês de recepção. Tendo em conta a composição físico-química dos leites e a influência na transformação em queijo, pode concluir-se que a queijaria deve ter, sobretudo, atenção ao fornecedor de leite, se possível seleccionando-os em função das características mais decisivas para o tipo de queijo que pretende fabricar.

Quadro XI – Efeito dos factores produtor e mês na composição físico-química

	Acidez	pH	Densidade	RST	RSIMG	MG	PB	CMT
Produtor	**	ns	ns	**	**	**	**	**
Mês	ns	**	*	Ns	ns	ns	**	ns

Nota: ** - $p < 0,01$; * - $p < 0,05$; ns - não significativo

2. Aptidão Tecnológica

2.1. Médias Globais

Apesar da influência que a qualidade higiénica e a composição do leite pode ter no fabrico de queijo, quer a nível do rendimento queijeiro, quer na qualidade do queijo, há outros aspectos relevantes, como já foi referido, e que se relacionam com a aptidão do leite para o fabrico do queijo e a sua variação.

De acordo com os objectivos deste estudo, foi avaliada em todas as amostras a respectiva aptidão tecnológica, simulando o processo de coagulação no laboratório através do Optigraph e verificando o comportamento do leite nesta decisiva fase de fabrico. Como referido anteriormente, de forma a conhecer o comportamento na coagulação, utilizaram-se diversos parâmetros relacionados com a fase enzimática (R), e com a fase de agregação micelar, em particular a firmeza do gel (AR, A2R, A₂₀, A₄₀), bem como a velocidade a que a consistência do gel se desenvolve (OK20).

No Quadro XII, apresenta-se a média desses mesmos parâmetros, no leite utilizado pela queijaria durante o trabalho experimental.

Quadro XII – Aptidão tecnológica geral do leite na queijaria

	R (s)	AR (V)	A2R (V)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	OK20 (s)
Média	761	8,16	11,96	5,54	12,25	550
Desv.Pad.	66	1,23	1,68	0,89	1,54	94
Coef.Var(%)	9	14	14	16	13	17
Máx.	873	12,28	17,81	7,99	16,69	869
Min.	492	5,84	8,49	3,5	9,39	347
N	82	82	82	82	82	82

Os resultados obtidos estão de acordo com o comportamento habitual na coagulação com leite de ovelha, verificado em estudos anteriores (Almeida, 2003; Almeida, 2006; Martins *et al.*, 2007; Ramos, 2009), nos quais se identificam, no entanto, influências no comportamento do leite em função de vários factores, designadamente da raça das ovelhas e das propriedades físico-químicas do leite. Os valores médios da firmeza do gel indicam-nos algumas semelhanças com os resultados do estudo de Almeida (2003), obtidos com misturas de leites de diferentes raças, desde exóticas a autóctones ($AR=7,91$; $A_{2R}=11,42$; $A_{40}=10,85$), enquanto os restantes parâmetros foram semelhantes ao estudo realizado por Almeida (2006), médias obtidas apenas com leite da raça Assaf ($R=767$; $A_{20}=4,91$; $OK_{20}=547$). A variabilidade foi mais elevada no OK_{20} e na firmeza do gel ao fim de 20 minutos (A_{20}), parâmetros que estão mais dependentes dos diversos factores que influenciam a fase de agregação micelar, já abordados na revisão bibliográfica. No entanto, esta variabilidade não é tão notória como noutros estudos, os quais revelaram coeficientes de variação muito superiores a 20% (Almeida, 2006; Martins *et al.*, 2007).

2.2.Médias mensais

Tendo em conta a composição média mensal do leite recebido na queijaria, conseguem antever-se as variações dos parâmetros analisados, a evolução da consistência do gel e dos tempos de coagulação e agregação micelar. As maiores variações observadas são nos primeiros dois meses para todos os parâmetros, excepto OK_{20} que tem maior variabilidade em abril (Quadro XIII). As variações observadas nos primeiros meses devem-se às variações do teor proteico e pH também evidenciadas nesses meses, pois são factores importantes que influenciam a coagulação. No entanto, o efeito do mês só foi evidente e significativo para os parâmetros de consistência do gel A_{20} ($p < 0,05$) e A_{40} ($p < 0,01$) e ainda no tempo de agregação micelar OK_{20} ($p < 0,05$) nos meses de Abril e Maio.

Podemos observar na Figura 13, as variações ao longo dos meses dos tempos R e OK_{20} , que seguem uma tendência decrescente proporcional, o que significa que há medida que o tempo de coagulação diminui também uma consistência padrão das coalhadas é obtida mais rapidamente. Isto acontece, devido à diminuição do teor proteico ao longo dos meses; no entanto, como se pode observar no Quadro XIII, apenas em Maio se verificou uma redução significativa de OK_{20} , significando uma maior velocidade de agregação micelar, a qual conduz mais rapidamente a uma mesma firmeza do gel. Em consequência, a consistência do gel ao fim de 20 e de 40 minutos também registou em Maio valores significativamente mais elevados, não obstante os teores proteicos inferiores, provavelmente compensados por alguma diminuição dos valores de pH, um factor importante na coagulação enzimática do leite.

Quadro XIII – Médias mensais dos parâmetros tecnológicos

		R (s)	AR (V)	A2R (V)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	OK20 (s)
Fevereiro	Média	776	8,33	11,89	5,35 ^{ab}	11,72 ^{ab}	577 ^{ab}
	Desv.Pad.	75	1,70	2,49	0,68	1,95	97
Março	Média	755	8,07	11,96	5,57 ^{ab}	12,16 ^{ab}	552 ^{ab}
	Desv.Pad.	75	0,90	1,41	0,97	1,40	82
Abril	Média	774	7,84	11,42	5,16 ^b	11,57 ^b	584 ^b
	Desv.Pad.	30	0,78	1,05	0,73	1,17	112
Maio	Média	740	8,72	12,81	6,04 ^a	13,18 ^a	495 ^a
	Desv.Pad.	51	0,94	1,28	0,85	1,19	84

Nota: letras diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas entre as médias mensais ($p < 0,01$)

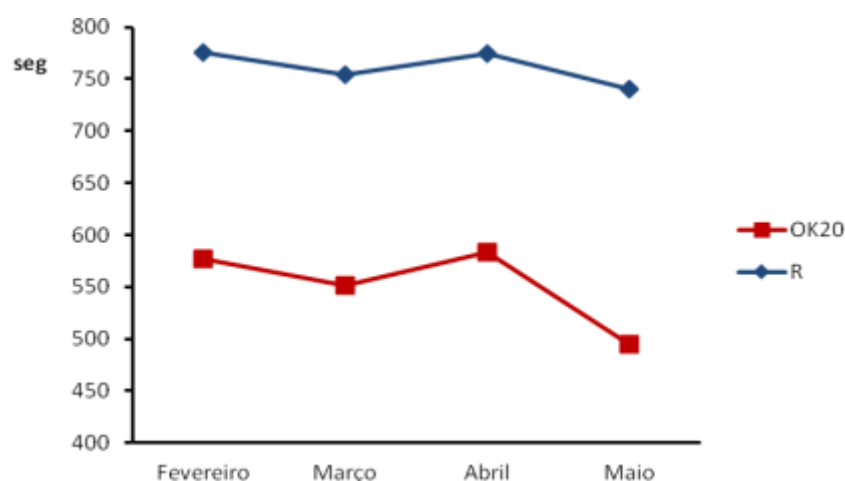


Figura 13 – Evolução dos tempos de coagulação (R) e do tempo necessário para a obtenção de uma consistência padrão (OK20)

Sabe-se que a consistência do gel depende essencialmente da composição do leite (Alichanidis & Polychroniadou, 1997; Lenoir *et al.*, 1997) e os resultados obtidos mostram uma tendência crescente da consistência do gel em função do mês de amostragem (Figura 14). Esta evolução não está de acordo com o previsto, pois o teor proteico e a matéria útil vão diminuindo ao longo do tempo e seria de esperar que a consistência também diminuísse. No entanto, mais uma vez, este pode ser a demonstração do efeito do pH, o qual, em termos

médios, pode ter sido decisivo no comportamento do leite na coagulação, tal como ocorreu em estudos anteriores (Almeida, 2006).

Observando a Figura 14, verifica-se que o parâmetro A2R, isto é, a firmeza do gel verificada ao fim de um tempo equivalente a três vezes o tempo de R, e o A₄₀, a firmeza do gel ao fim de 40 minutos após a adição do coagulante, têm valores quase coincidentes.

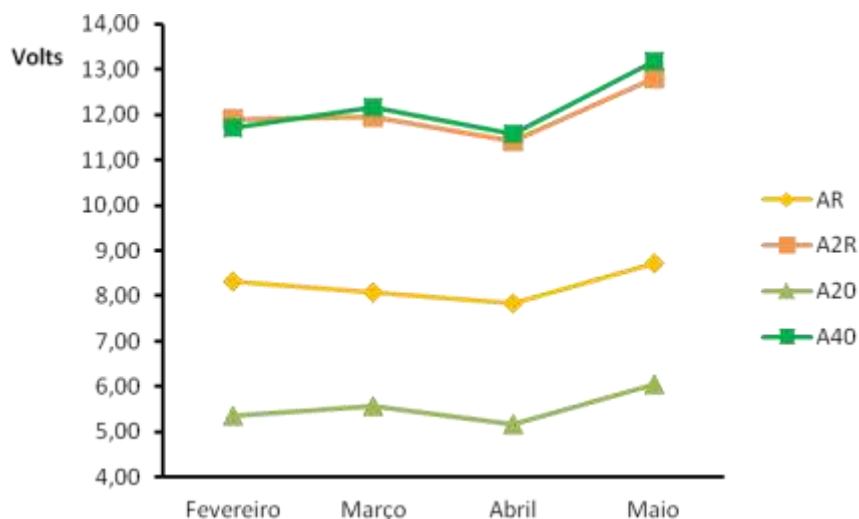


Figura 14 – Evolução dos parâmetros de consistência do gel (AR, A2R, A₂₀ e A₄₀) ao longo dos meses.

Tal acontece, pois o tempo de início de coagulação (R) não difere significativamente de mês para mês ($P > 0,05$, Quadro XIV), ao contrário do que se verificou com a origem do leite.

Quadro XIV – Efeito dos factores produtor e mês na aptidão tecnológica

	R	AR	A2R	A ₂₀	A ₄₀	OK20
Produtor	**	**	**	**	**	**
Mês	ns	ns	ns	*	**	*

Nota: ** - $p < 0,01$; * - $p < 0,05$; ns - não significativo

Portanto, considerando as médias mensais para o comportamento do leite na coagulação, o trabalho em queijaria poderia ser controlado apenas considerando o tempo de coagulação e de endurecimento da coalhada, permitindo alguma regularidade na tecnologia. O tempo equivalente à consistência determinada pelo parâmetro tecnológico A2R poderia ser o tempo

determinado para cessar a fase de coagulação, passando-se em seguida ao corte e ao trabalho da coalhada. Mahaut *et al.* (2000) demonstraram que para o fabrico de diferentes tipos de queijo, os tempos de coagulação são diferentes, correspondendo o 2R para queijos de pasta mole e 3R para queijos de pasta dura.

2.3. Médias por produtor e por lotes

No entanto, o trabalho diário na queijaria não se distribui apenas por um fabrico mas por uma série de fabricos de volumes mais reduzidos de leite e, por isso, interessa conhecer a variabilidade de características tecnológicas dos lotes de leite utilizados nos fabricos da queijaria, que tanto contemplam leites de uma só proveniência, como leites de mistura de diferentes proveniências.

Relativamente à aptidão tecnológica individual dos leites dos diferentes lotes, verificou-se que o efeito do produtor foi significativo ($p < 0,01$) em todos os parâmetros analisados (Quadro XV), tal como se verificou relativamente aos parâmetros de composição.

De todos as origens da matéria-prima, dois produtores destacaram-se, embora de forma oposta. O leite 113 obteve maiores médias de tempo de coagulação (R) e de consistência do gel (AR, A2R e A₄₀), o que evidencia uma coagulação mais lenta, originando coalhadas com consistência mais elevada (Quadro XV, Figura 15). Estes resultados estão em concordância com a composição físico-química pois é o leite que revelou, em média, maior teor proteico. Contrariamente, o leite 192 mostrou um início de coagulação mais rápido, com valores de R inferiores, mas com fraca consistência das coalhadas, com valores de AR e A2R mais baixos. Este leite possui o teor proteico médio menor, o que está de acordo com as tendências apontadas por outros autores (Martins *et al.*, 2007).

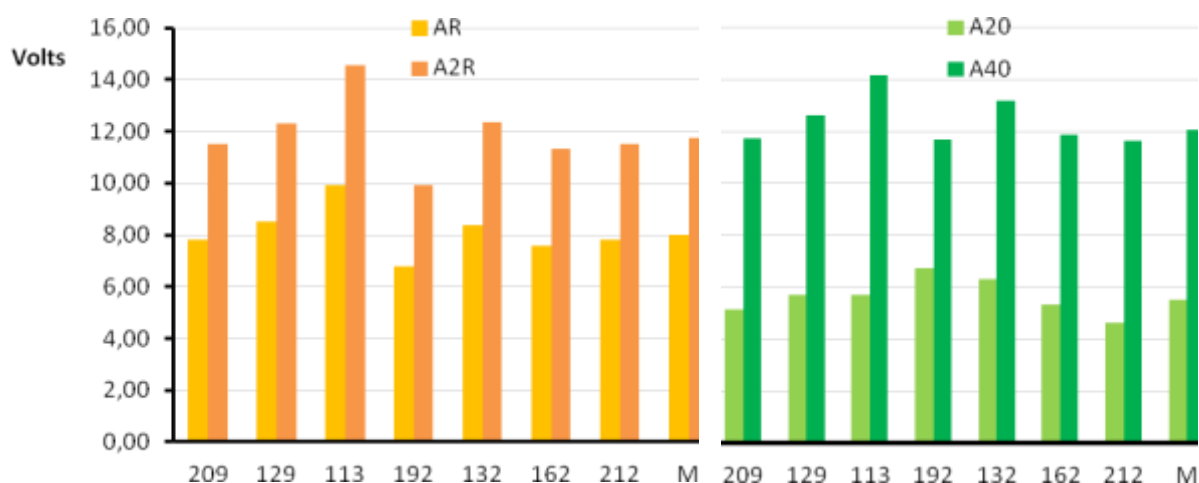


Figura 15 – Consistência média do gel (AR, A2R, A₂₀ e A₄₀) nos diferentes lotes.

Quadro XV – Médias dos parâmetros tecnológicos obtidos para os leites dos diferentes produtores e para os leites de mistura

		R	AR	A2R	A20	A40	0K20
		(s)	(V)	(V)	(V)	(V)	(s)
209	Média	781 ^{ab}	7,82 ^{bc}	11,53 ^{bc}	5,16 ^c	11,72 ^{bc}	592 ^{ab}
	Desv.Pad.	31	0,80	1,15	0,21	0,99	68
129	Média	771 ^{ab}	8,54 ^b	12,33 ^b	5,68 ^{ac}	12,60 ^{ac}	520 ^{bc}
	Desv.Pad.	36	0,79	1,13	0,37	0,96	58
113	Média	826 ^a	9,93 ^a	14,54 ^a	5,67 ^{ac}	14,17 ^a	459 ^c
	Desv.Pad.	47	1,51	2,25	0,85	1,92	84
192	Média	600 ^c	6,77 ^c	9,90 ^c	6,75 ^a	11,66 ^{ac}	566 ^{abc}
	Desv.Pad.	93	0,71	1,15	0,97	1,14	65
132	Média	725 ^b	8,38 ^b	12,35 ^b	6,30 ^{ab}	13,18 ^{ac}	513 ^{bc}
	Desv.Pad.	56	0,88	1,45	1,07	1,68	255
162	Média	752 ^b	7,59 ^{bc}	11,31 ^{bc}	5,30 ^c	11,89 ^{bc}	625 ^a
	Desv.Pad.	33	0,85	1,29	0,78	1,47	91
212	Média	824 ^{ab}	7,81 ^{bc}	11,53 ^{bc}	4,62 ^c	11,63 ^{bc}	599 ^a
	Desv.Pad.	22	0,96	1,38	0,75	1,45	156
M	Média	769 ^{ab}	8,02 ^{bc}	11,73 ^{bc}	5,50 ^{bc}	12,06 ^{bc}	564 ^{abc}
	Desv.Pad.	40	0,96	1,38	0,77	1,31	87

Nota: letras diferentes na mesma coluna significam diferenças significativas entre as médias mensais ($p < 0,01$)

Os leites dos produtores 162 e 212 foram os mais próximos do 192 quanto ao teor em proteína. O leite 162 evidenciou diferenças de composição semelhantes ao 192 e não se detectaram diferenças significativas para o leite 212. No entanto, no que se refere à aptidão tecnológica, estes dois leites destacaram-se, exibindo taxas de agregação micelar significativamente mais baixas, correspondendo a valores mais elevados de 0K20.

Na Figura 16, podemos também observar que o leite 113 com um dos tempos mais prolongados de coagulação foi o que correspondeu a uma taxa de agregação micelar maior, isto é, alcançou a consistência padrão da coalhada mais rapidamente. Tal deve-se certamente à quantidade e qualidade da proteína deste leite. Os leites 209 proveniente de rebanho de raça Saloia, e 132, proveniente de rebanho de mistura de animais de diferentes raças existentes na região, Lacaune e Saloia, revelaram também tempos de coagulação mais elevados, mas com taxas de agregação micelar um pouco inferiores, o que foi observado também pelo estudo de Martins *et al.* (2005) para raças autóctones.

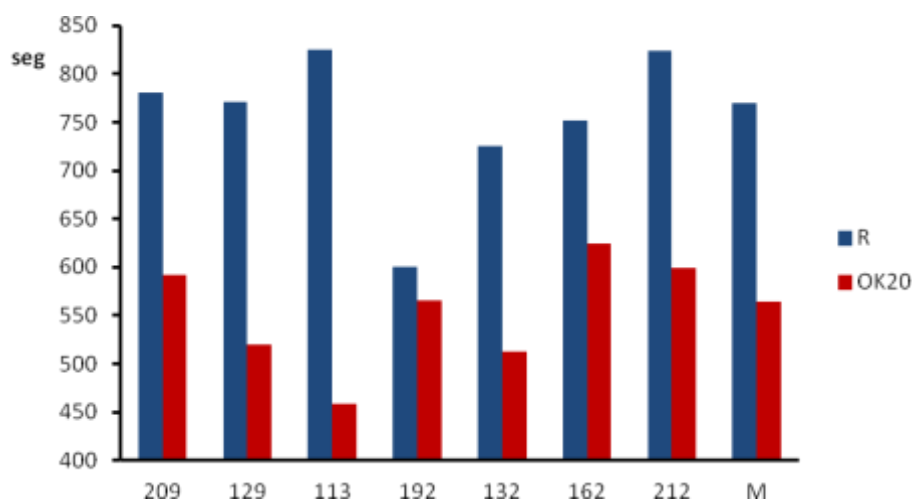


Figura 16 – Tempo de coagulação (R) e velocidade de agregação micelar (OK20) nos diferentes leites

Relativamente ao rendimento queijeiro potencial, os leites com maior percentagem de matéria útil (proteína e gordura) e que se comportam melhor na coagulação são com certeza os leites que obterão maiores rendimentos queijeiros posteriormente; quanto a estes aspectos, o leite que demonstrou melhor qualidade foi o proveniente do fornecedor 113, com médias de matéria útil superior, coalhadas consistentes e maior velocidade de agregação micelar.

V. CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

Em relação aos aspectos físico-químicos, a composição do leite foi significativamente influenciada pelo produtor, pela origem, em quase todos os parâmetros. Observaram-se médias individuais de residuo seco total, proteína bruta e gordura, significativamente diferentes e com valores inferiores ao desejável e pretendido para optimização do rendimento de fabrico de queijo.

Os índices de frescura e de higiene do leite (pH e acidez) também demonstraram alguma variabilidade e, tendo em conta os valores obtidos na contagem de microrganismos, podemos assumir falta de higiene generalizadamente patente neste leites, em qualquer ponto desde a ordenha do animal ao transporte e conservação do mesmo, até à chegada à queijaria. Provavelmente existirá algum agravamento das condições microbiológicas do leite devido à refrigeração, pois foi verificada a relação entre as elevadas contagens totais de microrganismos e a presença maioritária de psicrótrófos, com alterações pouco evidentes a nível da acidez e do pH do leite.

Dada a utilização cada vez mais intensa de meios técnicos e tecnológicos na obtenção e conservação do leite, a má condição microbiológica do leite pode ser cada vez menos admitida como normal, e o efeito não significativo do mês, isto é, da época de recepção, está cada vez mais esbatida pelos novos processos tecnológicos e sistemas de produção. A sazonalidade sente-se cada vez menos na queijaria e a evolução antes natural do estado de frescura do leite também depende cada vez menos da época do ano, dependendo mais do modo como a manipulação da matéria-prima é efectuada.

A partir destes resultados, sugere-se que a queijaria deveria fazer uma selecção mais adequada dos seus fornecedores e controlar com maior rigor as condições em que se efectua a refrigeração do leite e as condições em que o mesmo é transportado, não esquecendo os cuidados referentes às condições de manutenção do leite na queijaria até ao momento da utilização.

Relativamente à aptidão tecnológica, que está mais relacionada com o processo de fabrico e o seu controlo, mais uma vez o factor produtor foi o que teve efeito mais significativo em todos os parâmetros analisados, o que nos demonstra a sua relação com a composição físico-química dos leites, principalmente com os teores de proteína, gordura e pH. Obtiveram-se comportamentos tecnológicos significativamente diferentes para os leites provenientes das diferentes origens.

O comportamento na coagulação variou de tempos de coagulação rápidos e velocidade de agregação micelar mais baixas, com fracas consistências de coalhadas (192), a fases

enzimáticas da coagulação mais lentas mas com velocidades de agregação micelar muito mais rápidas, conduzindo a coalhadas mais consistentes (113), mostrando que, para chegarmos a um efectivo controlo do processo de fabrico subsequente e, portanto, a um comportamento do queijo em cura mais homogéneo, se torna necessário controlar adequadamente a fase de coagulação e de endurecimento da coalhada, de forma a contrariar a variabilidade induzida por lotes de leite de características diferentes.

Os resultados mostraram, também, que a variabilidade de comportamentos está muito mais relacionada com os fornecedores, isto é, com a produção de leite, do que com a época do ano, significando que a sazonalidade será cada vez menos marcada face às mudanças dos sistemas de produção de leite.

Neste trabalho, e na perspectiva da produção animal, isto é, do lado do produtor de leite, faltam alguns factores importantes que nos poderiam fornecer conclusões mais autênticas e detalhadas. É o caso da influência das condições de produção animal nos diferentes leites obtidos, cuja influência na composição físico-química, poderiam ajudar a perceber melhor o modo como, a nível das explorações, se poderia atenuar alguma da variabilidade a nível das propriedades da matéria-prima.

Deste modo, estudos futuros poderiam tentar incluir também a influência destes factores, de forma a conseguir complementar este trabalho e tentar melhorar o sector queijeiro com o contributo não só da evolução das práticas de fabrico mas também a nível das condições de produção animal.

VI. BIBLIOGRAFIA

- ADDEO, F., MASI, P., & RUBINO, R.** (1992). The aptitude of caprine milk to cheese making. Relationship between α_{s1} -casein content and rheological properties of curd and cheese. *Journal of Dairy Science Abst.*, 54, 472.
- ALICHANIDIS, A., & MICHAELIDOU, A. M.** (1990). Glycoproteins in the heat-and acid-stable fraction of ovine milk. *Journal of Dairy Research*, 57, 507-515.
- ALICHANIDIS, E., & POLYCHRONIADOU, A.** (1997). Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. *Sheep Dairy News*, 14, 11-18.
- ALMEIDA, M. P.** (2006). *Caracterização da lactação e do Leite de ovelha da raça assaf*. Dissertação de Mestrado em Produção Animal, Instituto Superior de Agronomia e Faculdade Medicina de Veterinária-UTL/ISA/FMV, Lisboa.
- ALMEIDA, R. B.** (2003). *Influência das Condições de Produção nas Características de Leite de ovelha destinado ao fabrico de queijo*. Relatório de Trabalho de fim de Curso de Engenharia Agronómica, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- ALVES, S. M. P.** (2003). *Efeito de alguns factores tecnológicos na coagulação do leite com extractos de cardo Cynara cardunculus L.* Trabalho final da Licenciatura em Engenharia Agro-Industrial, ISA. Lisboa.
- AMBROSOLI, R., DISTASIO, L., & MAZZOCCO, P.** (1988). Content of α_{s1} -casein and coagulation properties of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 71, 24-28.
- ANUÁRIO PECUÁRIO** (2008/2009). GPPAA, Ministério da Agricultura Pescas e Florestas, Lisboa.
- ASSENAT, L.** (1985). Lait de brebis. Composition et properties. In F. Luquet, *Lait et Produits Laitiers. Vache, Brebis, Chèvre* (Vol. 1). Paris: Tec.&Doc.-Lavoisier.
- ATTAIE, R., & RICHER, R. L.** (2000). Size distribution of fat globules in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 83(5), 940-944.
- BALDWIN, K. A., BAER, R. G., PARSONS, J. G., SEAS, S. W., SPURGEON, K. R., & TORREY, G. S.** (1986). Evaluation of yield and quality of Cheddar cheese manufactured from milk with added whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 69, 2543-2550.
- BANOS, G., & SHOOK, G. E.** (1990). Genotype by environmental interaction and genetic correlations among parities for somatic cell count and milk yield. *Journal of Dairy Science*, 73, 2563-2573.
- BARABAS, J.** (1976). Changes in chemical composition and physical properties of ewe's milk caused by grazing on pastures intensively fertilized with nitrogen. *Zivocisná Vyroba*, 21, 617-624. Citado por Ramos & Juárez (1981).
- BARBANO, D. M., RASMUSSEN, R. R., & LYNCH, J. M.** (1991). Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. *Journal of Dairy Science*, 74, 369-388.
- BARILLET, F., & ASTRUC, J. M.** (1995). Survey of milk recording and genetic evolution in dairy genetic evaluation in dairy sheep in ICAR member countries. In L. Lajoue, S. Lafontaine, &

P. Doyle (Ed.), *Proceedings 29th Biennial*. 76, pp. 259-269. Ottawa, Canada: Agriculture & Agrifood Canada Publ. Citado por Park & Haenlein (2006).

BARRONS, L. J., LABASTIDA, E. F., PEREA, S., CHAVARRI, F., DE VEGA, C., VICENTE, M. S., et al. (2001). Seasonal changes in the composition of bulk raw ewe's milk used for Idiazabel cheese manufacture. *Int.Dairy Journal*, 771-778.

BARRUCAND, P., & RAYNAL-LJUTOVAC, K. (2007). Variation of whey protein content in goat milk and impact on cheese yield. *5th Internacional Symposium on the Challenge to Sheep and Goats Milk sectors*, (p. 147). Alghero, Italy.

BEHMER, M. L. (1981). *Tecnologia do Leite-Produção, Industrialização e Análise*. Livraria Nobel S.A.

BENCINI, R. & PULINA, G. (1997). The quality of sheep milk: a review. *Aust. J. Exp. Agric.*, 37, 485-504. Citado por Pavic et al. (2002).

BENCINI, R., & JOHNSTON, K. (1996). Factors affecting clotting properties of sheep milk. In IDF, *Production and utilization of ewe and goat milk*. Bélgica.

BERTOZZI, L. (1995). *Designation of Origin: quality and specification. Food quality and preference* (Vol. 6).

BERTOZZI, L., & PANARI, G. (1993). Cheese with Appellation d'Origine Contrôlée (AOC): factors that affect quality. *Int. Dairy Journal*, 3, 297-312.

BOUJENANE, I., & LAIRINI, K. (1992). Genetic and environmental effects on milk production and fat percentage in D'man and Sardi ewes and their crosses. *Small Rum. Res.*, 8, 207-215.

BOUQUIER, F., & CAJA, G. (2001). Production et composition du lait de brebis: Effect de l'alimentation (production and composition of sheep milk: effects of nutrition). *INRA Production Animal*, 40, 129-140. Citado por Park et al. (2007).

BRENDEHAUG, J., & ABRAHAMSEN, R. (1986). Chemical composition of milk from herd of Norwegian goats. *Journal of Dairy Research*, 53, 211-221.

BUFANO, G., DARIO, C., & LAUDADIO, V. (1996). The characteristics of Leccese sheep: variations of chemical composition and lactodynamographic parameters in milk as related to somatic cell counts. *Proceeding of an International Symposium. Somatic cells and milk of small ruminants*. 77, pp. 301-304. EAAP Publication. Citado por Pavic et al. (2002).

CALVO, M. M. (2002). Influence of fat, heat treatments and species on milk rennet clotting properties and glycomacropetide formation. *Eur Food Res. Technol.*, 214, 182-185.

CHAVANNES, D., & DEMONT, P. (1945). *Contrôle du lait et des principaux produits laitiers*. Librairie Rouge & Cie S.A, Lausanne.

CHILLIARD, Y., & FERLAY, A. (2004). Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod.Nutr.Dev.*, 44, 467-492. Citado por Park et al. (2007).

CHILLIARD, Y., ROUEL, J., FERLAY, A., BERNARD, L., GABRORIT, P., RAYNAL-LJUTOVAC, K., et al. (2006a). Optimising goat's milk and cheese fatty acids composition. In C. Williams, & J. Buttriss, *Improving the fat content of foods* (pp. 281-312). UK: woodhead publishing Ltd.cambridge. Citado por Raynal-Ljutovac et al. (2008).

-
- CHIOFALO, B., LIOTTA, L., ZUMBO, A., & CHIOFALO, V.** (2004). Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Rum.Res.*, 55, 169-176.
- CHIOFALO, V., BALDI, A., SAVOINI, G., POLLIDORI, F., DELL'ORTO, V., & POLITIS, I.** (1999). Response of dairy ewes in late lactation to recombinant bovine somatotropin. *Small Rum.Res.*, 34, 119-125.
- DARIO, C., LAUDADIO, V., & BUFANO, G.** (1996). Caratterizzazione della pecora Leccese. *Latte*, 20, 1266-1269.
- DIRETTIVA EUROPEIA 92/46/CEE:** Regras sanitárias aplicáveis à produção e comercialização de leite cru, de leite tratado termicamente e de produtos lácteos. (1992). *Jornal oficial da União Europeia*, 258, 1-32.
- ECK, A.** (1987). *O Queijo-1º volume*. Mem-Martins: Europa-América.
- EMALDI, G. C.** (1997). Hygienic Quality of dairy products from ewe and goat milk. *Sheep Dairy News*, 14(2), 31-33.
- FAO.** (1986). *Production YearBook 1985* (Vol. 39). Rome: Food and Agriculture Organization Publ. Citado por Park & Haenlein (2006).
- FAO.** (2002). *Production Yearbook 2001* (Vol. 55). Rome: Food and Agriculture Organization Publ. Citado por Park & Haenlein (2006).
- FENYVESSY, J., & JAVOR, A.** (1999). Milk composition of different sheep genotype. *Proceedings of the Sixth Internation Symposium on the milking small ruminants*. 95, pp. 430-433. EAAP publication. Citado por Pavic *et al.* (2002).
- FIL/IDF.** (2011). The World Dairy Situation 2011. *Bull.Int. Dairy Fed.*, 451.
- FLAMANT, J. C., & MORANDO-FEHER, P.** (1982). Milk Production in sheep and goats. *Elsevier Sci.Publ.Co, World Animals Series C*, 1, 275-295. Citado por Park & Haenlein (2006).
- FUERTES, J. A., GONZALO, C., CARRIEDO, J. A., & SAN PRIMITIVO, F.** (1998). Parameters of test day milk yield and milk composition of dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 81, 1300-1307.
- GARCÍA-ARMESTO, M. R., PRIETO, M., ALONSO, C., GARCÍA LÓPEZ, M. L., GARCÍA-FERNÁNDEZ, & OTERO, A.** (1993). Numerical taxonomy of psychrotrophic bacteria isolated from raw ewe's milk. *Journal of Dairy Research*, 60, 371-383.
- GARCÍA-ARMESTO, R., PRIETO, M., OTERO, A., ENCINAS, J.-P., GARCÍA-LÓPEZ, L., & MORENO, B.** (1994). Assesment of the microbiological quality of raw ewes milk by rapid colorimetric methods. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 48, 99-110.
- GLANNOUKOU, M., KEHAGIAS, C., & KATSIPI, A.** (1989). Effect of various factors on the characteristics and the yield of cheese coagulum and strained yogurt from various kinds of milk. *Greek Journal of Dairy Science Technol.*, 6, 5-28.
- GONZALO, C., CARRIEDO, J. A., BARO, J. A., & SAN PRIMITIVO, F.** (1994). Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat and protein in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 77, 1537-1542.

-
- GRANDPIERRE, C., GHILSOFI, J., & THOUVENOT, J. P.** (1988). Etude biochimique du lait de chèvre. *Cah.Nutr.Diet*, 23(5), 367-374. Citado por Raynal-Ljutovac *et al.* (2008).
- GRUMMER, R. R.** (1991). Effect of feed on the composition of milk fat. *Journal of Dairy Science*, 74, 3244-3257.
- GUO, M.** (2003). Goat's milk. In B. Caballero, L. Trugo, & P. Finglas, *Encyclopedia of Food Science and Nutrition* (pp. 2944-2949). London,UK: Academic Press. Citado por Park *et al.* (2007).
- GUT, A., WOJTOWSKI, J., DANKOW, R., WOJCIECHOWSKI, J., & MALINOWSKI, E.** (1996). Somatic cells and physico-chemical traits of milk of some polish sheep breeds and lines. *Proceedings of an Internation Symposium.Somatic cells and milk of small ruminants*. 77, pp. 221-226. EAAP Publication. Citado por Pavic *et al.* (2002).
- HAENLEIN, G. F.** (1996). Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk. In IDF, *Production an utilization of ewe and goat milk*. Bélgica.
- HOLT, C., & JENNESS, R.** (1984). Interrelationships of constituents and partition of salts in milk samples from eight species. *Comp.Biochenim.Physiol.*, 77A (2), 275-282. Citado por Raynal-Ljutovac *et al.* (2008).
- INE.** (2012). *Estatísticas Agrícolas 2011*. Instituto Nacional de Estatística, Lisboa.
- IPQ.** (1991). NP-1986 Leites. *Determinação do teor de proteína bruta. Técnica de Kjeldahl*.
- IPQ.** (1983). NP-456 Leites. *Ensaio preliminares de análise. Prova pelo azul de metileno*.
- IPQ.** (1989). NP-459 Leites. *Contagem de microrganismos a 30°C.Processo de referência*.
- IPQ.** (1983a). NP-469 Leites. *Determinação da matéria gorda (Técnica de Gerber). Processo corrente*.
- IPQ.** (1983b). NP-470 Leites. *Determinação da Acidez*.
- IPQ.** (1983c). NP-474 Leites. *Determinação da densidade relativa. Processo corrente*.
- IPQ.** (1983d). NP-475 Leites. *Determinação do resíduo seco e resíduo seco isento de matéria gorda*.
- ISO/DIS.8552.** (1986). Lait- *Dénombrement des micro-organismes psychrotrophes-Technique par comptage des colonies à 21°C (Méthode rapide)*.
- JAKOB, E.** (1994). Genetic polymorphism of milk proteins. *Bull.Int.Dairy Fed.*, 298, 17-27.
- JUÀREZ, M., & RAMOS, M.** (1986). Physicochemical characteristics of goat's milk as distinct from those of cow's milk. *Bull.Int.Dairy.Fed.*, 202, 54-67.
- KALANTZOPOLLOUS, G., DUBEUF, J.-P., VALLERAND, F., PIRISI, A., CASALTA, E., LAURET, A.** (2004). Characteristics of sheep and goat milk-quality and hygienic factors of sheep and goat dairy sectors. *Bull.Int.Dairy Fed.*, 390.
- KALANTZOPOULOS, G.** (1993). Etat de la recherché sur le lait de chèvre en Grèce. *Lait* , 73, pp. 431-441.

-
- KLEINPETER, K.** (2001). Using light in a dairy sheep operation. In D. Thomas, & S. Porter (Ed.), *Proceedings 7th Great Lakes Dairy Sheep Symposium* (pp. 136-142). WI,U.S.A: Spooner Agricultural Research Station Publ. Citado por Park & Haenlein (2006).
- LE JAOUEN, J. C.** (1990). Le Lait:sa production. In *La fabrication du fromage de chèvre fermier* (pp. 15-47). ED. ITOVIC. Citado por Raynal-Ljutovac *et al.* (2008).
- LE JAOUEN, J. C., REMEUF, F., & LENOIR, J.** (1990). Données récentes sur le lait de chèvre et les fabrication de produits laitiers caprinis. *Proceeding 23rd Int.Dairy Congr.*, 1, pp. 433-455. Montreal.
- LENOIR, J., REMEUF, F., & SCHNEID, N.** (1997). Le lait de fromagerie-láptitude du lai a la coagulation par la présure. In G. ECK, & G. ECK (Ed.), *Le fromage.De la science à lásurance-qualité* (pp. 229-256). Paris: Tec.&Doc.-Lavoisier.
- LES MENS, P.** (1985). Lait de chèvre. Propriétés physicochimiques, nutritionnelles et chimiques. In F. Luquet, *Laits et Produits Laitiers. Vache, Brebis, Chèvre* (Vol. 1, pp. 349-368). Paris: Tec.&Doc.-Lavoisier.
- LUCK, H., & GRAVON, H.** (1990). Quality control in the dairy industry. In *Dairy microbiology.The microbiology of milk products* (Vol. 2, pp. 345-392). London: R.K.Robinson. Citado por Stancheva (1995).
- LUQUET, F. M.** (1985). *O Leite - Do úbere à fábrica de lacticínios*. Mem-Martins: Europa América.
- MAHAUT, M., JEANTET, R., & BRULÉ, G.** (2000). *Initiation à la technologie fromagère*. Paris: Tec.&Doc.- Lavoisier.
- MANALU, W., & SUMMARYADI, M.** (1998). Correlation of litter size maternal serum progesterone concentration during pregnancy with mammary gland growth and development indices at parturition in Javanese thin-tail sheep. *Journal of Animal Science*, 11, 300-306. Citado por Park & Haenlein (2006).
- MANFREDINI, M., STIPA, S., NANNI, N., & BOATTINI, B.** (1993). Variazioni annuali dei principali caratteri qualitative del latte ovino di massa in alcuni allevamenti dell'Emilia Romagna. *Sci.Tecn.Latt-Casear*, 44, 407-422. Citado por Pavic *et al.* (2002).
- MARCOS, A.** (1987). Spanish and Portuguese cheese varieties. In *Cheese:Chemistry, physics and microbiology. Major cheese groups* (Vol. 2, pp. 185-219). London: P.F.Fox.
- MARTINS, A. P. L.** (2012). *Apontamentos da disciplina de Lacticínios*. Mestrado em Engenharia Alimentar 2012/2013, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- MARTINS, A. P. L.** (1989). *O leite de ovelha-produção, utilização e características.Contribuição para o estudo e caracterização do leite de ovelha da região de Azeitão*. Prestação de prova de acesso à categoria de Assistente de Investigação, NTLD,ENTPA,INIA, Lisboa.
- MARTINS, A.P.L.** (1999) *A flor de cardo (Cynara cardunculus L.) como agente coagulante no fabrico do queijo. Caracterização e influência dos processos de conservação na actividade coagulante*. Dissertação apresentada ao ISA para prestação de provas de doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, Dezembro de 1999.

-
- MARTINS, A. P. L., & VASCONCELOS, M. M.** (2003/2004). A qualidade do queijo fabricado com leite cru. Efeito dos principais factores tecnológicos. *Pastagens e Forragens*, vol.24/25, pp.15-33.
- MARTINS, A. P. L., & VASCONCELOS, M. M.** (1993). Alguns aspectos da qualidade do leite e fabrico de queijos regionais. *Revista Via Láctea*, vol. 2, 73-79.
- MARTINS, A. P. L., BELO, A. T., VASCONCELOS, M. M., FONTES, A. L., PEREIRA, E. A., & BELO, C. C.** (2007). Caracterização do sistema de Produção do queijo Nisa (DOP): Efeito da raça na composição e aptidão tecnológica do leite de ovelha. *Actas do 6º Seminário Int.FAO-CIHEAM*. Lisboa.
- MARTINS, A. P. L., BELO, C. C., PEREIRA, E. A., VASCONCELOS, M. M., MARTINS, M. P., MIMOSO, M. C.** (2005). *Aptidão tecnológica do leite de ovelha de diferentes raças tendo em vista o fabrico de queijo*. NTLD-DTPA, Estação Agronómica Nacional, Instituto Superior de Agronomia, Estação Zootécnica Nacional, Lisboa.
- MATI, A., GIRARDET, J. M., XENAKIS, D., & LINDEN, G.** (1991). Isolement et caractérisation de la fraction hydrophobe des prose-peptone de laits de bovin, ovin et caprin. *Lait*, 71, pp. 259-273.
- McKUSICK, B. C., WILTBANK, M. C., SARTORI, R., MARNET, P. G., & THOMAS, D. L.** (2001c). Can the ovary influence milk production in dairy ewes. In D. Thomas, & P. S. (Ed.), *Proceedings 7th Great Lakes Dairy Sheep Symposium* (pp. 186-198). WI,U.S.A: Spooner Agricultural Research Station Publ. Citado por Park & Haenlein (2006).
- McMAHON, D. J.; BROWN, R. J.** (1982) Evaluation of Formagraph for comparing rennet solutions. *Journal of Dairy Science*, 65, 1639-1642.
- MIKUS, M., & MASAR, M.** (1989). Milking of ewes three times and twice a day with and without hand stripping. *Procedings North American Dairy Sheep Symposium* (pp. 186). St.Paul, Minnesota, U.S.A: University Minnesota Publ. Citado por Park & Haenlein (2006).
- MIMOSO, M. C., & FIRME, M. P.** (1994). *Grupos Microbianos do leite de ovelha da região de azeitão*. Estação Nacional de Tecnologia dos Produtos Agrícolas, Lisboa.
- MONTEL, M.-C.** (2012). Comunicação pessoal.
- MUIR, D. D., HORNE, D. S., LAW, A. J., & STEELE, W.** (1993). Ovine milk: Seasonal changes in composition of milk from commercial Scottish flock. *Milchwissenschaft*, 48, 363-366.
- NEEDS, E. C.** (1992). Effects on long-term deep-freeze storage on the condition of the fat in raw sheeps's milk. *Journal of Dairy Science*, 59, 49-55.
- Ng-KWAI-HANG, K. F., POLITIS, I., CUE, R. I., & MARZIALI, A. S.** (1989). Correlations between coagulation properties of milk and cheese yielding capacity and cheese composition. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 22:291. Citado por Calvo (2002).
- NUNEZ, M., & MEDINA, M. P.** (1989). Ewe's milk cheese: technology, microbiology and chemistry. *Journal of Dairy Research*, 56, 303-321.
- O'CONNOR, P., & FOX, P. F.** (1973). Temperature dependat dissociation of casein micelles from the milk of various species. *Milk Dairy Journal*, 27, 127-199. Citado por Park *et al.* (2007).

-
- OJEDA, E.** (1973). Calidad de la leche obtenida por ordeño mecánico. Raza Manchega. *Rev.Esp.Lechería*, 90, pp. 207. Citado por Ramos & Juárez (1981).
- OTHMANE, M. H., CARRIEDO, J. A., FUENTE, L. F., & SAN PRIMITIVO, F.** (2002). Factors affecting test-day milk composition in dairy ewe's, and relationships among various milk components. *Jornal of Dairy Research*, 69, 53-62.
- PACCARD, P., & LAGRIFFOUL, G.** (2006a). *Synthèse bibliographique sur la composition des fromages de brebis em composes d'intérêt nutritionnel*. Personal communication, 28. Citado por Raynal-Ljutovac et al. (2008).
- PACCARD, P., & LAGRIFFOUL, G.** (2006b). *Synthèse bibliographique sur la composition des fromages de brebis em composes d'intérêt nutritionnel*. Personal communication, 24. Citado por Raynal-Ljutovac et al. (2008).
- PARK, Y. W.** (1994). Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Rum.Res.*, 14, 151-161.
- PARK, Y. W., & CHUKUW, H. I.** (1988). Macro-mineral concentrations in milk of two goat breeds at different stages of lactation. *Small Rum. Res.*, 1, 157-165.
- PARK, Y. W., & HAENLEIN, G. F.** (2006). *Handbook of milk non-boivne mammals*. Blacwel Publishing.
- PARK, Y. W., JUÁREZ, M., RAMOS, M., & HAENLEIN, G. F.** (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rum. Res.*, 68, 88-113.
- PAVÍČ, V., ANTUNAC, N., MIOC, B., IVANKOVIC, A., & HAVRANEK, J. L.** (2002). Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk. *Czech Journal of Animal Science*, 47, 80-84.
- PELLEGRINI, O., REMEUF, F., & RIVERMALE, M.** (1994). Evolution des caractéristiques physicochimiques et des parameters de coagulation du lait de brebis collecté dans la region de Roquefort. *Lait*, 74, pp. 425-442.
- PRENTICE, G. A., & LANGRIDGE, E. W.** (1992). Laboratory control in milk products manufacture. In R. Early, *The technology of dairy products* (pp. 247-271). Glasgow, US. Citado por Stancheva (1995).
- PUGLIESE, C., ACCIAOLI, A., RAPACCINI, S., PARISI, G., & FRANCI, O.** (2000). Evolution of chemical composition, somatic cell count and renneting properties of the milk of Masses ewes. *Small Rum.Res.*, 35, 70-71.
- RAMOS, J. M.** (2009). *Efeito da refrigeração em leite de ovelha – evolução da flora microbiana e efeito na aptidão tecnológica para queijo*. Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Zootécnica – Produção Animal, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- RAMOS, M., & JUÁREZ, M.** (1981). The composition of ewe's and goat's milk. *Bull.Int.Dairy Fed.*, 140.
- RAMOS, M., SANCHEZ, R., OLANO, A., SANZ, J., & MARTINEZ-CASTRO, I.** (1988). Comparative studies on "acide-stable, heat stable polypeptides of ovine, caprine and bovine milks. *Z.Lebensm.Unters.Forsch*, 186, 22-24. Citado por Alichanidis & Polychroniadou (1997).

-
- RAYNAL-LJUTOVAC, K., LAGRIFFOUL, G., PACCARD, P., GUILLET, I., & CHILLIARD, Y.** (2008). Composition of goat and sheep milk products. *Small Rum. Res.*, 79, 57-72.
- REGULAMENTO (CE) N.º 853/2004-** regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. (2004). *Jornal oficial da União Europeia*.
- REMEUF, F., COSSIN, V., DENVIN, C., LENOIR, J., & TOMASSONE, R.** (1991). Relationship between physico-chemical characteristics of milk and their cheese making properties. *Lait*, 71, pp. 397-421.
- REMEUF, F., LENOIR, J., & DUBY, C.** (1989). Etude des relations entre caractéristiques physicochimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la pression. *Lait*, 69, pp. 499-518.
- RINCON, F., MORENO, F., ZURERA, G., & AMARO, M.** (1994). Mineral composition as a characteristic of the identification of animal origin of raw milk. *Journal of Dairy Research*, 61, 151-154.
- ROTTUNO, T., SEVI, A., CATERINA, R., & MUSCIO, A.** (1998). Effects of grade levels of dietary rumen-protected fat on milk characteristics of Comisana ewes. *Small Rum. Res.*, 30, 137-145.
- SÁ, V., & BARBOSA, M.** (1990). *Leite e os seus produtos*. classica editora, tecnica agrícola 5.
- SANNA, S. R., CARTA, A., & CASEU, S.** (1997). Co-variance component estimates for milk composition traits in Sarda dairy sheep using bivariate animal model. *Small Rum.Res.*, 25, 77-82.
- SANZ SAMPELAYO, M. R., MARTÍN ALONSO, J. J., PÉREZ, L., GIL EXTREMERA, F., & BOZA, J.** (2004). Dietary supplements for lactating goats with polyunsaturated fatty acid-rich protected fat. Effects after supplementation withdrawal. *Journal of Dairy Research*, 87, 1796-1802.
- SCHALICHEV, Y., & TANEV, G.** (1976). Comparative study of the milk yield and composition of Zlatusha sheep, East-Friesian sheep and of their crosses. *Journal of Animal Science*, 4, 81-90.
- SCHALICHEV, Y., & TANEV, G.** (1974). Quantity and composition of ewe's milk obtained by machine milking. *Zhivonot dni Nauki*, 11, 105-110. Citado por Ramos & Juárez (1981).
- SORMUNEN-CRISTIAN, R., KETOJA, E., & HEPOLA, H.** (1997). Sufficiency of energy and protein standards for lactation of adult multiparous Finnish Landrace ewes. *Small Rum.Res.*, 223-237.
- STANCHEVA, N.** (1995). Study of the Microbiological Quality of Sheep Milk Raw. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 1, 315-319.
- STORRY, J. E., & FORD, G. D.** (1982). Some factors affecting the post clotting development of coagulum strength in renneted milk. *Journal of Dairy Research*, 49, 469-477.
- STORRY, J. E., GRANDISON, A. S., MILLARD, D., OWEN, A.-J., & FORD, G. D.** (1983). Chemical composition and coagulation properties of renneted milks from different breeds and species of ruminant. *Journal of Dairy Research*, 50, 215-229.
- TANEV, G.** (1973). Effect of 75% replacement of dietary N by urea and ammonium sulphate on the composition and properties of sheep's milk. *Journal of Dairy Research*, 40, 323-328.

TANEV, G., & YOCHEVA, G. (1976). Comparative study of milk protein of East Friesian and Zlatusha ewes. II Changes in the percentage ratios of protein fractions during the milk period. *Journal of Animal Science*, 13, no.7, 27-32.

UBERTALLE, A., BATTAGLINI, L. M., FORTINA, R., & BIANCHI, M. (1996). Effect of some variation factors on somatic cell count in Delle Langhe sheep milk. *Proceeding of an International Symposium. Somatic cells and milk of small ruminants*. 77, pp. 187-192. EAAP Publication. Citado por Pavic *et al.* (2002).

VAN HOOYDONK, A. C., & VAN DEN BERG, G. (1988). Control and determination of the curd-setting during cheesemaking. *Bull.Int.Dairy Fed.*, 225, 1-10.

VASCONCELOS, M. M. (1990). *Estudo do queijo de Azeitão. Melhoramento da tecnologia tradicional e sua influência nas características do queijo*. Prestação de prova de acesso à categoria de Investigador Auxiliar, NTLD, ENTPA, INIA. , Lisboa.

VOUTISINAS, L. P., DELEGIANNIS, C., KATSIARI, M. C., & PAPPAS, C. (1988). Chemical composition of Boutsico ewe milk during lactation. *Milchwissenschaft*, 43, 766-771.

ZAMIRI, M. J., QOTBI, A., & IZADIFARD, J. (2001). Effect of daily oxytocin injection on milk yield and lactation length in sheep. *Small Rum.Res.*, 40, 179-185. Citado por Park & Haenlein (2006).

ANEXOS

Quadro com os resultados obtidos da composição físico-química e higiênica

Amostras	Acidez mLNaOH M/L	pH	Densidade (20°C)	RST (g/100g)	RSIMG (g/100g)	MG (g/100g)	PB (g/100g)	Red. Az. Met. (h;m)	CMT (ufc/mL)
08-02-2012									
129	23,0	6,61	-	18,94	10,85	8,35	5,53	4h	1,3E+05
192	24,5	6,54	-	15,82	9,87	6,15	4,84	30m	1,4E+08
132	23,0	6,73	-	16,58	10,64	6,15	5,53	2h30m	1,5E+06
113	27,5	6,57	-	18,28	11,41	7,10	5,98	4h	1,5E+06
209	20,0	6,65	-	18,57	11,37	7,40	5,83	30m	> 300 x 10 ⁵
M (129,113,209)	25,5	6,64	-	18,38	11,41	7,20	5,88	30m	3,0E+07
16-02-2012									
129	26,0	6,72	-	18,80	11,26	7,80	5,66	2h30m	2,0E+05
209	24,0	6,74	1,0355	18,83	11,39	7,70	5,80	30m	5,4E+07
113	26,0	6,76	1,0350	19,13	11,88	7,50	5,93	2h30m	9,0E+04
M (129, 209)	23,0	6,73	1,0355	18,19	11,43	7,00	5,67	30m	3,8E+07
23-02-2012									
129	24,0	6,69	1,0332	17,83	10,77	7,30	5,26	1h	3,0E+06
209	23,0	6,71	1,0342	18,58	10,95	7,90	5,41	30m	1,3E+07
132	24,0	6,69	1,0342	17,26	10,59	6,90	5,28	1h	1,8E+06
113	27,0	6,74	1,0352	18,63	11,05	7,85	5,88	1h	5,8E+06
162	22,0	6,78	1,0342	16,78	10,69	6,30	4,79	1h30m	3,0E+05
M1 (129,209)	26,0	6,71	1,0362	17,77	11,02	7,00	5,42	30min	1,6E+07
M2 (132,113,162)	24,5	6,72	1,0347	17,10	10,53	6,80	5,27	1h	3,3E+06
01-03-2012									
209	23,0	6,68	1,0352	18,04	11,18	7,10	5,26	1h30m	1,6E+06
129	25,0	6,65	1,0332	17,70	10,83	7,10	5,11	1h	7,5E+05
113	27,0	6,71	1,0357	18,37	11,41	7,10	5,66	1h30m	7,8E+05
132	23,0	6,63	1,0337	16,91	10,34	6,80	4,92	1h	3,0E+06
192	24,0	6,64	1,0332	15,62	9,82	6,00	4,74	30m	9,4E+07
M1 (129,113,209)	27,0	6,63	1,0357	17,76	11,10	6,90	5,40	1h30m	4,8E+06
M2 (209,129,113,132)	28,0	6,67	1,0337	17,39	10,72	6,90	5,26	1h30m	2,0E+06
08-03-2012									
129	26,0	6,64	1,0342	17,71	10,46	7,50	5,26	30m	7,5E+07
209	25,0	6,65	1,0332	18,87	10,50	8,70	5,10	30m	1,1E+08
113	29,0	6,62	1,0372	17,70	11,38	6,60	5,47	1h30m	2,0E+06
192	24,0	6,66	1,0347	15,13	9,81	5,50	4,53	30m	9,5E+07
132	26,0	6,67	1,0357	16,97	10,79	6,40	5,25	1h	8,9E+06
M1 (209, 129)	26,0	6,68	1,0342	17,40	10,82	6,80	5,34	1h	2,1E+07
M2 (192,209,113)	27,0	6,67	1,0352	16,47	10,48	6,20	5,36	30m	3,0E+07

14-03-2012										
	192	35,0	6,24	1,0348	16,06	9,87	6,40	4,69	0m	6,3E+07
	132	24,0	6,62	1,0323	17,98	11,88	6,30	5,06	30m	1,1E+07
	113	25,0	6,70	-	17,77	11,15	6,85	5,45	2h	3,0E+06
	129	28,0	6,60	-	17,27	10,56	6,95	5,19	30m	1,4E+08
	209	25,0	6,67	-	18,01	10,46	7,80	4,89	30m	9,8E+07
21-03-2012										
	113	27,0	6,58	1,0348	18,26	10,92	7,60	5,44	30m	1,1E+07
	129	25,5	6,56	1,0357	18,42	10,89	7,80	5,33	30m	1,9E+07
	132	26,5	6,58	1,0328	17,83	10,47	7,60	5,11	30m	3,2E+06
	162	23,5	6,67	1,0343	17,08	10,70	6,60	4,84	4h30	1,9E+06
	209	25,0	6,63	1,0343	18,15	11,00	7,40	5,30	3h30	3,3E+07
	M1 (113, 129)	26,0	6,59	1,0348	17,84	10,98	7,10	5,43	1h	1,7E+07
	M2 (132,209)	24,0	6,60	1,0338	17,92	10,66	7,50	5,43	30m	2,3E+07
28-03-2012										
	129	28,0	6,52	1,0367	17,86	11,32	6,5	5,20	4h	2,1E+04
	162	20,0	6,62	1,0362	17,24	11,02	6,2	4,82	4h	2,4E+05
	209	24,0	6,56	1,0362	18,30	11,14	7,2	5,00	1h	7,8E+06
	132	24,0	6,53	1,0328	18,14	10,59	7,6	4,82	30m	2,6E+06
	208	21,0	6,62	1,0348	17,35	11,01	6,3	4,99	30m	2,7E+07
	M (129, 162)	23,0	6,55	1,0362	17,60	11,15	6,5	5,00	4h	4,6E+05
09-04-2012										
	132 A	25,0	6,66	1,0342	17,78	10,59	7,2	4,85	30m	8,5E+05
	132 B	24,0	6,67	1,0318	18,13	10,56	7,6	4,83	30m	2,1E+06
	129	27,0	6,61	1,0332	18,62	11,10	7,5	5,21	1h	
	162	24,0	6,68	1,0342	17,08	10,96	6,1	4,72	1h	7,7E+05
16-04-2012										
	129	27	6,58	1,0352	18,41	11,38	6,8	5,45	5h	1,1E+05
	132	25	6,60	1,0330	18,74	10,92	7,6	5,16	1h	1,6E+07
	162	24	6,62	1,0340	17,50	11,01	6,3	4,91	3h	7,9E+06
23-04-2012										
	129	27,0	6,60	1,0342	17,73	11,29	7,2	5,41	3h	7,1E+04
	132	25,0	6,60	1,0332	18,37	11,00	7,1	5,16	1h	7,5E+06
	162	24,0	6,65	1,0342	17,23	10,91	6,1	4,80	3h	8,0E+05
	212 A	24,0	6,65	1,0337	18,08	10,98	6,8	4,95	4h	5,0E+06
	212 B	23,0	6,67	1,0330	17,79	10,87	6,7	4,91	4h	4,5E+05
02-05-2012										
	129	28,0	6,66	1,0332	18,29	10,97	7,1	5,19	<2h30	-
	132	25,0	6,62	1,0332	18,24	10,87	7,1	5,13	1h30	-
	162	24,0	6,63	1,0340	17,24	10,86	6,2	4,80	1h30	-
07-05-2012										
	129	28,0	6,62	1,0332	17,83	10,94	6,7	5,18	2h30	1,1E+06
	162	26,0	6,60	1,0342	17,17	10,89	6,1	4,91	30m	1,0E+08
	132	27,0	6,52	1,0332	18,99	10,80	7,9	5,29	30m	4,9E+07
	212	23,0	6,66	1,0322	17,97	10,70	7,1	4,86	2h30	8,7E+06

M (129, 162)	26,0	6,57	1,0342	17,35	10,91	6,2	4,98	30m	5,2E+07
14-05-2012									
129	25,0	6,63	1,0353	17,62	11,00	6,4	5,10	2h	3,3E+05
162	24,0	6,62	1,0332	17,27	10,60	6,5	4,67	2h30	4,6E+05
132	25,0	6,57	1,0327	17,77	10,71	6,9	4,96	<30m	3,0E+07
M (129, 162)	25,0	6,62	1,0332	17,33	10,72	6,4	4,78	2h	9,5E+05
21-05-2012									
129	25,00	6,68	1,0352	17,96	11,21	6,52	5,43	2h	6,5E+06
162	29,00	6,58	1,0342	17,04	10,86	5,98	4,97	2h30	7,5E+05
132	29,00	6,56	1,0332	19,68	11,18	8,22	5,71	30m	9,4E+07
M (129, 162)	27,00	6,61	1,0342	17,39	10,84	6,33	4,96	2h30	2,7E+06
29-05-2012									
129	26,00	6,66	1,0343	18,49	11,25	7,00	5,45	2h	2,8E+05
162	25,00	6,61	1,0322	17,50	10,52	6,76	4,70	4h	3,8E+05
132	24,00	6,62	1,0327	20,49	11,17	9,02	5,57	30m	7,4E+06
192	22,00	6,68	1,0332	17,54	10,87	6,45	4,72	1h	5,3E+06
M (129, 162)	23,00	6,64	1,0327	17,89	10,72	6,94	4,89	3h30m	6,1E+05

Quadro com os resultados obtidos na aptidão tecnológica

Amostras	R (s)	AR (V)	A2R (V)	A ₂₀ (V)	A ₄₀ (V)	OK20 (s)
08-02-2012						
129	756	8,34	11,89	5,74	12,43	526
192	557	5,84	8,49	6,38	10,45	661
132	872	8,33	12,56	4,05	11,64	600
113	801	11,30	16,69	7,01	16,68	361
209	794	8,34	12,40	5,26	12,46	540
M (129,113,209)	775	7,77	11,46	5,10	11,72	588
16-02-2012						
129	823	9,54	13,60	5,39	13,39	484
209	817	9,05	12,76	5,35	12,61	498
113	868	10,50	15,70	5,23	14,70	444
M (129, 209)	858	9,16	13,06	4,74	12,23	520
23-02-2012						
129	760	7,74	11,10	5,37	11,47	577
209	751	7,35	10,63	5,21	11,11	614
132	722	7,14	10,25	5,45	10,89	621
113	873	12,28	17,81	6,19	16,69	347
162	776	7,13	10,81	4,63	11,03	674
M1 (129,209)	747	7,09	10,34	5,07	10,81	650
M2 (132,113,162)	767	7,69	10,00	5,44	10,43	577
01-03-2012						
209	816	8,46	12,07	5,12	11,89	553
129	739	6,81	9,78	5,06	10,29	688
113	825	8,45	12,21	4,92	11,95	559
132	681	9,08	13,18	7,62	14,65	414
192	635	6,84	9,34	6,33	10,67	587
M1 (129,113,209)	819	7,79	11,28	4,65	11,11	629
M2 (209,129,113,132)	752	7,99	11,58	5,57	11,85	558
08-03-2012						
129	705	8,18	11,96	6,47	12,93	496
209	740	7,20	10,94	5,18	11,69	632
113	775	8,16	12,12	5,39	12,41	550
192	576	7,10	10,64	7,47	13,25	505
132	782	8,87	13,74	5,62	13,97	503
M1 (209, 129)	743	7,54	11,30	5,38	11,99	601
M2 (192,209,113)	708	6,44	9,00	5,43	10,06	721
14-03-2012						
192	492	6,38	9,61	7,99	11,90	507
132	663	8,99	13,67	7,75	15,52	519
113	872	9,56	14,28	4,65	13,40	503
129	698	7,76	11,96	6,15	12,79	540

	209	770	7,31	10,97	5,13	11,50	592
21-03-2012							
	113	765	9,30	12,99	6,34	13,37	450
	129	778	8,42	12,01	5,58	12,25	523
	132	706	7,72	11,35	6,06	11,95	550
	162	755	9,16	13,59	6,29	14,29	466
	209	807	8,19	12,81	5,34	12,79	583
	M1 (113, 129)	774	8,59	12,21	5,63	12,50	520
	M2 (132,209)	735	7,85	11,38	5,83	12,06	555
28-03-2012							
	129	760	8,67	12,36	5,91	12,65	488
	162	816	6,85	10,07	4,01	9,87	751
	209	754	6,69	9,63	4,68	9,74	721
	132	729	9,32	13,71	6,93	14,52	432
	208	793	8,46	13,22	5,13	13,34	557
	M (129, 162)	780	7,42	11,50	4,82	11,72	641
09-04-2012							
	132 A	773	7,84	11,31	5,15	11,51	587
	132 B	745	6,91	9,93	4,99	10,37	676
	129	778	7,84	11,12	5,17	11,34	581
	162	781	8,45	12,60	5,47	12,84	528
16-04-2012							
	129	784	8,58	12,25	5,67	12,42	506
	132	755	8,58	12,24	6,10	12,72	487
	162	761	7,15	10,30	4,99	10,73	652
23-04-2012							
	129	776	8,39	12,07	5,54	12,28	531
	132	706	7,87	11,71	6,19	12,82	531
	162	764	6,60	9,70	4,47	10,04	748
	212 A	791	7,81	11,53	4,92	11,63	599
	212 B	833	6,31	9,74	3,50	9,39	869
02-05-2012							
	129	765	9,18	13,25	6,20	13,66	466
	132	731	8,97	14,13	6,55	15,41	467
	162	740	7,15	10,92	5,09	11,80	702
07-05-2012							
	129	778	8,72	12,81	5,70	13,05	509
	162	723	7,16	11,01	5,41	12,09	625
	132	646	7,70	11,39	7,00	13,30	495
	212	824	8,09	12,44	4,62	12,11	599
	M (129, 162)	824	8,09	12,44	4,62	12,11	599
14-05-2012							
	129	797	9,19	13,51	5,68	13,53	483
	162	738	7,46	11,18	5,42	11,94	600
	132	661	7,52	10,58	6,57	11,89	530

M (129, 162)	787	9,93	14,41	6,71	14,82	414
21-05-2012						
129	832	9,975	14,38	5,585	14,01	447
162	700	7,5	10,915	6,04	11,94	558
132	693	9,7	13,82	7,905	14,9	382
M (129, 162)	729	9,305	13,65	7,32	14,44	398
29-05-2012						
129	803	9,26	13,225	5,665	13,18	474
162	717	8,905	13,29	6,515	14,185	569
132	743	9,59	14,07	6,915	14,79	421
192	740	7,715	11,425	5,565	12,035	571
M (129, 162)	743	8,56	12,375	6,175	13,045	490